Dr. Mieczysław Julian Gorgolewski.

Über den Einfluß von Salzen auf einige physikalische und biochemische Eigenschaften der Gelatine

Über den Einfluß von Salzen auf einige physikalische und biochemische Eigenschaften der Gelatine.

Inaugural-Dissertation,

der

mathematisch-naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Universität Freiburg in der Schweiz

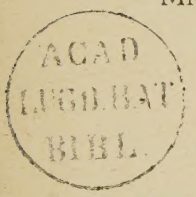
zur

Erlangung der Doktorwürde

vorgelegt von

Mieczysław Julian Gorgolewski,

aus Posen.



Freiburg (Schweiz)

St.-Paulus-Druckerei

1912

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545305_0048

INHALTSVERZEICHNIS.

I. Kapitel.

Darstellung und chemisches Verhalten des reinen Glutins.

Seite

Einleitung: Geschichtlicher Überblick 7

1. Reinigung der Gelatine:

a) durch Dialyse 10

b) durch Gefrierung 12

anschließend: Wasser zur Goldsolbereitung . 17

2. Analysen 18

a) Analysen verschiedener Autoren und verschiedener Produkte 20

b) Schwefelbestimmungsmethode 22

c) Phosphorbestimmung 25

d) Bestimmung des Säuregrades 25

e) Stickstoffbestimmung 26

f) Wassergehalt 26

g) Beweise der Reinheit des Glutins 26

h) Millon's Reaktion 28

i) Tanninfällung 29

II. Kapitel.

Physikalisch-chemische Eigenschaften des Glutins.

1. Eigenschaften des reinen Glutins 33

a) Löslichkeit 33

b) Gelatinierung 35

α) Gelatinierung des aschenfreien Glutins . . 36

c) Ausscheidung des Glutins aus seiner Lösung . 37

d) Opalescenz 38

α) Einfluß des Glases 39

e) Elektrisches Leitvermögen 44

f) Elektrischer Transport (Kataphorese) 45

Seite

g) Strukturen in der Ausscheidung durch Gefrierung 49
h) Die Quellung 51
2. Einige Umwandlungsprodukte 54
a) Umwandlung : α) durch trockene Erhitzung . 54
β) durch Hydrolyse 58
b) Löslichkeitsverhältnisse 60

III. Kapitel.

Die Wirkung der Kationen auf die Eigenschaften des Glutins und seiner künstlichen Collagene.

Einleitung : Geschichtlicher Überblick 65
1. Löslichkeit des Glutins in Salzlösungen 68
2. Einfluß der Salze auf das Gelatinierungsvermögen . 71
3. Einfluß der Elektrolyte auf die Opalescenz . . . 76
4. Wirkung der Elektrolyte bei Gegenwart von Alkohol 79
5. Bedeutung der Elektrolyte für die Hydrolyse des künstlichen Collagens 89
6. Allgemeine Übersicht über die Wirkung der Elektrolyte 91

IV. Kapitel.

Die Rolle der Salze bei der peptischen Verdauung mit besonderer Berücksichtigung der Kationen.

Einleitung : Geschichtlicher Überblick 95
1. Reinigung des Fibrins 97
2. Verdauung des Fibrins 100
3. Verdauungsversuche mit :
a) Collagen von 130° 112
b) Collagen von 110° 115
α) saure Verdauung 116
β) peptische Verdauung ohne Säure 121
Allgemeine Übersicht und Schlußwort 124

I. KAPITEL.

Darstellung und chemisches Verhalten des reinen Glutins.

Darstellung der salzfreien Gelatine, des Glutins.

Geschichtlicher Überblick.

1. Reinigung der Gelatine.

Infolge der großen Bedeutung, die den leimgebenden Stoffen im lebenden Organismus zukommt, steht ihr Umwandlungsprodukt, die Gelatine, schon seit langem im Vordergrunde des Interesses.

So hat es nicht an Versuchen gefehlt, dieselbe möglichst rein darzustellen und ihre Eigenschaften näher kennen zu lernen. Jedoch — infolge von Schwierigkeiten, die später erörtert werden sollen — ist diese Aufgabe nur ungenügend gelöst worden. Auf Grund von Erfahrungen mit Albuminstoffen überhaupt war im Jahre 1898 mein Chef, Herr Prof. Dr. Ch. Dhéré zu der Ansicht gekommen, daß man sich beim Studium der allgemeinen Eigenschaften der Gelatine ihre vollständige Demineralisierung zur ersten Aufgabe machen müsse. Seine damals begonnene Arbeit habe ich im Jahre 1908 wieder aufgenommen und in demselben Sinne fortgesetzt. Unter den Forschern, die sich mit dem Studium der Eigenschaften der reinen Gelatine, des Glutins, befaßten, finden wir in erster Reihe Hofmeister [1], der im Jahre 1878, von einer «reinsten,

[1] *Ztschr. f. physiol. Chem.*, II, 300 (1878), Über die chem. Struktur des Collagens.

käuflichen Gelatine » ausgehend, bei seinen ersten Versuchen [1] ein offenbar wenig reines Glutin erhielt, indem er die Gelatine so lange mit destilliertem Wasser auszog, bis in demselben kein Chlor mehr nachweisbar war. Ein besseres Glutin bereitete er sich zum Studium der quantitativem Verhältnisse bei der Umwandlung von Leim in Collagen [2]. Die Gelatine wurde zuerst mit destilliertem Wasser von löslichen Beimengungen völlig befreit durch oftmaliges Übergießen der Gelatinestücke in einem hohen Becherglas und Abhebern des Waschwassers. Hierauf wurde sie auf dem Wasserbade bei mäßiger Wärme gelöst und in 90 %igen Alkohol filtriert. Der in feinfaserigen Massen ausgeschiedene Leim enthielt lufttrocken 0,61 % Asche. Ungefähr dasselbe Resultat erhielt Paal [3] durch Fällung mittels Alkohol. Es ist hierbei zu bemerken, daß die Angabe des Originalberichts von nur 0,07 % Aschengehalt, welche man in der späteren Literatur zitiert findet, ohne Zweifel auf einen Druck- oder Rechenfehler zurückzuführen ist. Nach dem Protokoll lieferten 1,0085 g Substanz 0,007 g Rückstand, was einem Gehalt von 0,7 % entspricht. Das einfache Auswaschen der Gelatine mit destilliertem Wasser bis zum Verschwinden der Chlorreaktion wurde eine ziemlich allgemeine Methode zur Isolierung des Glutins. Dastre und Floresco [4] behandeln die beste Handelsgelatine mehrere Tage mit oft gewechseltem destilliertem Wasser bis zum Aufhören der erwähnten Reaktion. Lüppo-Cramer [5] laugt« Emulsionsgelatine von Heinrichs » 10

[1] *loc. cit.*, Seite 302.
[2] *loc. cit.*, Seite 315.
[3] *Ber. d. D. chem.* Ges., XXV, 1208 (1892).
[4] *Arch. de Physiologie*, XVII. p. 706 (1895).
[5] *Kolloid-Zeitschr.*, I, 353 (1906).

bis 15 mal je 15 bis 20 Minuten mit Wasser aus. Schon nach 4- bis 5-maligem Auswaschen waren Chloride und Sulfate nicht nachweisbar ; geringe Spuren von Calciumsalzen blieben als « unauswaschbar » zurück. Auch Chittenden und Solley [1] glaubten durch mehrmaliges Waschen, Auflösen und Fällung mit Alkohol von 93 % ihre Gelatine genügend gereinigt zu haben ; ihr Produkt ließ jedoch 1,26 % Asche zurück. Andere Autoren richteten ihr Augenmerk besonders auf die organischen Beimengungen, welche die Gelatine, ihrer Darstellung aus dem Kollagen der Knochen entsprechend, enthält. Die chemische Leimanalyse [2] ergibt Eiweißkörper, Mucine, Nucleoproteïde und Chondroïtinschwefelsäure als organische Hauptverunreinigungen. Es sind mehrere Verfahren bekannt, um das Glutin von den organischen Verunreinigungen zu befreien, während zur Demineralisierung die Dialyse (s. unten) so ziemlich allein dasteht. Von Mineralsalzen findet man außer den leichtlöslichen Chloriden und Sulfaten — Phosphate, und Sulfate des Calciums und Eisens, die der Extraktion hartnäckig Widerstand leisten. Faust bewirkte [3] die Reinigung der Gelatine mit Hilfe von schwach mit Essigsäure angesäuertem Wasser, mit Kochsalzlösung und schwachem Ammoniak. Carl Th. Mörner [4] wandte schwache Ätzalkalilösungen (von 0,1—0,5 %) an und glaubte, alle eiweißartigen Beimengungen entfernt zu haben. Die stark gequollene Gallerte wurde in warmem Wasser gelöst, filtriert und mit Alkohol ausgefällt. Als Endprodukt erhielt dieser Autor bei dem

[1] *Journal of Physiology*, XII, 23 (1891).
[2] Scott, *Kolloid.-Ztsch.* I, 375 (1906/07).
[3] *Arch. f. exper. Path. und Pharm.*, XL, 309 (1898).
[4] *Ztschr. f. physiol. Chem.*, XXVIII. 472 (1899).

Verfahren ein Glutin mit einem Gehalt von 0,25 bis 0,75 % an mineralischen Bestandteilen, welches in chemischer Beziehung unverändert war. Zur Darstellung eines möglichst aschenarmen Glutins schneidet MÖRNER eine 10 bis 15 %ige wässerige Lösung seines von fremden organischen Stoffen befreiten Präparates nach dem Gelatinieren in dünne Scheiben und wäscht wochenlang mit ätherhaltigem, oftmals erneuertem destilliertem Wasser. Der Gehalt an Asche wurde hierdurch von 1,87 % in der ursprünglichen Gelatine auf 0,16 bis 0,13 % im Glutin herabgesetzt. Nach einem anderen Verfahren entfernt man die gelösten und suspendierten Beimengungen durch Koagulation mit Alaun und Eiweiß [1]. Alle diese Methoden findet SADIKOFF [2] unzweckmäßig und empfiehlt die Reinigung vor der Glutinierung des Kollagens, oder, um das Glutin als solches zu reinigen, die Benutzung seines Verhaltens gegenüber Salzlösungen und Säuren.

Dialyse.

Nach Durchsicht der ganzen Literatur hatten wir uns nun vorgenommen, durch einfache Dialyse zu einem besseren Resultat zu gelangen und können jetzt in der Tat günstige Erfolge aufweisen.

Zu unseren Versuchen besorgten wir uns die besten Gelatinen des Handels: Gelatine I^{a} von Dr. GRÜBLER und Cie, Leipzig, Gelatine extra von COIGNET in Paris, ferner zum Vergleiche Chicago-Gelatine extra mit Goldmarke und die weniger feine Chicago-Gelatine mit Silbermarke. Wir verwendeten zur Dialyse destilliertes

[1] SCHLEGEL, *Die Leimfabrikation*, 1879.

[2] *Ztschr. f. physiol. Chem.*, XLVIII, 135 und XLVI, 393 (1906 und 1905).

Wasser unter Zusatz von 1 % Äther als Antiseptikum. Als Gefäße dienten uns 2 und 3 Liter fassende, weithalsige Gläser mit eingeschliffenen Glasstöpseln. In diese Gläser wurden die Gelatineblätter mit ungefähr dem Vierzigfachen ihres Gewichtes Wasser übergossen und an einem kühlen Ort, dessen Temperatur um 5° herum schwankte, beiseite gestellt. Zwei- bis dreimal täglich wurde der Inhalt gut durchgeschüttelt. Die ersten zwei Wochen wurde das Waschwasser alle Tage erneuert, später alle drei bis fünf Tage. Es gab von Anfang an Reaktionen mit Baryumchlorid, Ammoniumoxalat und angesäuerter Silbernitratlösung ; sie wurden alle Tage schwächer, so daß nach ungefähr zwei Wochen das Waschwasser direkt den angewandten Reagentien gegenüber rein erschien. Durch Eindampfen des Waschwassers in einer Porzellanschale über einer Spiritusflamme bis auf seinen vierzigsten bis fünfzigsten Teil konnten wir jedoch die Extraktion der Salze noch viel weiter wahrnehmen. Es ergab sich, daß zunächst die Chlorreaktion, später die auf Sulfationen verschwand, während die auf Calciumionen noch lange Zeit bestehen blieb. Die Dauer der Dialyse bis zur Demineralisation hängt von der Dicke der Gelatineblätter ab. Die dünnblättrige Gelatine von Dr. Grübler und Cie brauchte 20 Tage, die von Coignet, welche in verhältnismäßig dicken, schweren Blättern in den Handel kommt, sogar 2 Monate zu ihrer Reinigung. Die Menge des verwendeten destillierten Wassers betrug im ersten Falle für 300 g Gelatine ungefähr 130 Liter, im zweiten 300 Liter. Das Extrahieren der Salze geht anfangs schnell vor sich, nur die letzten Spuren machen Schwierigkeiten. Die sehr schwer zu reinigende Gelatine Coignet mit einem ursprünglichen Aschengehalt von 1,42 % enthielt, nachdem 30,0 g derselben mit 15,5 Liter Wasser 5 Tage

lang ausgezogen worden waren, nur 0,125 % Asche. Der Verlust an Substanz durch längere Dialyse wurde zu ungefähr 7,5 % des Trockengewichtes der Gelatine gefunden. Der Grund dieses Verlustes ist sowohl in der Entfernung der besprochenen fremden Beimengungen als auch in der Auflösung des bei ihrer Darstellung hydrolysierten Teiles der Gelatine zu suchen. Zur schnellen Trocknung des Glutins behandelten wir es 2 Tage mit zweimal erneuertem Äthyl-Alkohol von 96 Vol. %. Dieser veränderte unser Produkt absolut nicht [1]. Mit Alkohol teilweise entwässertes Glutin nahm, in der Luftleere über konzentrierter reiner Schwefelsäure getrocknet, schon in 2 bis 3 Tagen konstantes Gewicht an, während die nicht vorgetrockneten Blätter sich zu Klumpen zusammenballten, die im Inneren sehr schwer trockneten. Das getrocknete Produkt enthielt im günstigsten Falle noch 8 % Wasser. Als Unterlage beim Trocknen erwiesen sich Drahtnetze aus reinem Nickel als sehr zweckmäßig; auf Porzellantellern bleibt das Glutin, besonders wenn es nicht mit Alkohol vorbehandelt ist, fest kleben und reißt bei gewaltsamer Entfernung Schuppen des Porzellans mit sich. Im Aussehen zeigte die Gelatine nach der Dialyse keine Veränderung.

Gefrierung.

Eine andere Darstellung reinen Glutins beruht auf seiner Eigenschaft, sich durch Gefrieren aus der wässerigen Lösung ausscheiden zu lassen. Versuche hierüber wurden veranlaßt durch die Beobachtung von Ljubawin [2], daß gewisse Kolloide, wie Kieselsäure, Stärke,

[1] Selbst zwei Monate in absolutem Alkohol aufbewahrtes Glutin in Flocken hatte keine Veränderung erlitten.

[2] *Journ. d. russ. phys.-chem. Ges.*, XXI, I, 397 (1889).

durch Gefrieren sich vom Wasser trennen lassen. Unser reinstes Glutin wurde in einer Platinschale in destilliertem Wasser gelöst und gefroren; nach dem Auftauen bei gewöhnlicher Temperatur wurde der Inhalt der Schale auf ein aschenfreies Filter von SCHLEICHER und SCHÜLL in einen Trichter aus Nickeldrahtnetz gebracht. Das Filtrat zeigte nicht die Biuretreaktion und reduzierte Kaliumpermanganat weder in alkalischer noch in saurer Lösung. Zu gleicher Zeit mit uns haben BOBERTAG, FEIST und FISCHER [1], die sich mit dem Gefrieren kolloidaler Lösungen besonders beschäftigten, außer der Ausscheidung von Agar-Agar, Stärke u. a. auch die der Gelatine festgestellt. Im Filtrat konnten sie mit Hilfe von Bleiessig und Tannin keine Substanz nachweisen. Das Glutin war also praktisch quantitativ ausgeschieden. Die Methode des Gefrierens liefert das Glutin in fein verteiltem und sehr trockenem Zustande ohne Schwierigkeit. Läßt man seine 1 %ige Lösung in einer Schale gefrieren und bringt sie zum Auftauen und Verdunsten in die Luftleere über Schwefelsäure, so nimmt das getrennte Glutin die Form eines voluminösen, leicht zerbrechlichen Schwammes an, der den Raum der ursprünglichen Lösung ausfüllt. Ist die Schale aus Glas oder Porzellan, so ist der Glutinschwamm elektrisch. Da feste Gallerten zu unvollkommen entwässert werden, so darf die Konzentration der gefrierenden Lösung 1 % nicht überschreiten. Diese Methode eignet sich daher nicht sehr zur Darstellung des Glutins in größerer Menge, wohl aber zu seiner raschen Gewinnung. Die Lösung wird in einem Nickeltiegel in ein Gemisch von Schnee und Kochsalz zum Gefrieren gebracht. Es empfiehlt sich, dieselbe vorher

[1] *Ber. d. Deutsch. chem. Ges.*, XXXXI, 3675 (1908).

zu filtrieren, um die zahlreichen auf der Gelatine klebenden, von ihrer Darstellung herrührenden Schnurnetzüberreste zu beseitigen. Zur Beschleunigung des Auftauens stellt man das Gefäß in Wasser von gewöhnlicher Temperatur und läßt es darin einige Stunden, um den mitausgeschiedenen Verunreinigungen die nötige Zeit zur Wiederauflösung zu geben.

Die Filtration muß (besonders bei wiederholter Reinigung) durch ein aschenfreies Filter und einen Nickeldrahtnetztrichter geschehen, da die Salze eines gewöhnlichen Filters und das Alkali des Glases das Glutin ungünstig beeinflussen. Versuche mit verschiedenen Sorten von Gelatine haben eine starke, zuweilen beinahe vollständige Entfernung der Salze nach einer einzigen Gefrierung ergeben. Das filtrierte Gefrierungswasser der Gelatine I[a] von GRÜBLER mit 2,42 % Asche hinterließ nach dem Verdunsten und Trocknen des Rückstandes bei 110° 17,2 % Substanz, die durch das Filter gegangen war; nach dem Erhitzen dieses getrockneten Teiles bis zur Rotglut fanden wir die entfernte Aschenbestandteile, welche 2 % des Gelatinegewichtes ausmachten: z. B. 0,2 g wasserfreie Gelatine wurden in 20 ccm Wasser gelöst und zum Gefrieren gebracht. 10 ccm des Gefrierungswassers wurden in einer Platinschale in einem Trockenschrank bei 110° eingetrocknet; sie hinterließen 0,0172 g Substanz; dieselbe gab zur Rotglut erhitzt 0,0020 g Rückstand. In ähnlicher Weise fanden wir für Gelatine COIGNET mit 1,42 % Asche einen Verlust von 17,31 % an organischen und 1,15 % an mineralischen Bestandteilen. Die Gelatine Chicago mit Silbermarke — eine minderwertige Sorte mit 1,80 % Asche — verlor unter diesen Bedingungen 39,11 % ihres Gewichtes mit fast dem ganzen Aschengehalt: 1,79 %. Wie man aus

diesen Versuchen ersieht, ist zur wirksamen Reinigung eine wiederholte Gefrierung der gut gewaschenen und bei der niedrigsten Temperatur wieder gelösten Glutinflocken notwendig. In wässeriger Lösung erfährt das Glutin auch bei mäßiger Erwärmung eine Hydrolyse ; dieselbe ist vollständig nach längerer Einwirkung, deren Dauer von der Höhe der Temperatur ganz besonders abhängig ist. Der Verlust des Gelatinierungsvermögens unter 100°, welcher Hydrolyse bedeutet, wurde von Kühne [1] zuerst beobachtet. Dieser Autor stellte auch fest, daß diese Veränderung rascher als durch Einwirkung von Wasser unter dem Einfluß von Säuren und Alkalien eintritt. Der hydrolysierte Teil wird durch Gefrieren nicht ausgeschieden. Zum Beweise haben wir uns durch mehrstündiges Erhitzen einer Gelatinelösung bei 120° im Autoklaven die hydrolysierte Gelatine, die β-Gelatine, hergestellt. Ihre klare gelbe Lösung wurde zum Gefrieren gebracht und bei Zimmertemperatur wieder aufgetaut. Durch diese Operation hatte die Lösung keine Veränderung erlitten.

Bei der späteren Wiederaufnahme unserer Versuche zur quantitativen Bestimmung der Verhältnisse bei der Gefrierungsmethode, bedienten wir uns viel empfindlicherer Reagentien, welche die Ergebnisse etwas anders gestalteten. Die Reaktion besteht in der Farbenschutzwirkung vieler organischer Kolloide einer hochroten kolloidalen Goldlösung gegenüber ; diese Schutzwirkung wurde bei dem Glutin außerordentlich hoch gefunden. Diese Reaktion wurde von Zsigmondy [2] eingeführt ; derselbe Autor und Schulz [3] verwendeten sie mit Erfolg

[1] Kühne, *Physiol. Chem.*, 1868, S. 356.

[2] Die hochrote Goldlösung als Reagens auf Colloide. *Ztschr. f. analyt. Chem.*, XL, 697 (1902).

[3] *Hofmeisters Beiträge z. chem. Phys. u. Path.*, III. 137 (1902).

zur Charakterisierung von Eiweißstoffen. Hinsichtlich der quantitativen Bestimmung der Schutzwirkung nennt ZSIGMONDY « Goldzahl » einer kolloidalen Substanz diejenige Menge derselben, die gerade genügt, um zu verhindern, daß 10 ccm einer hochroten kolloidalen Goldlösung in violett umschlagen, wenn ihnen ein ccm 10%ige Kochsalzlösung zugesetzt wird. Unter genauer Beobachtung der Vorschriften des Autors haben wir uns eine hochrote Goldlösung hergestellt. Nach dieser Vorschrift wird Goldchlorwasserstoff in schwach alkalischer Lösung mittels Formaldehyd reduziert. Die erste und schwierigste Bedingung ist hierbei die Verwendung von höchst reinem, unter besonderen Vorsichtsmaßregeln zweimal destilliertem Wasser. Indem wir unsere Versuche in Erlenmeyergläsern von SCHOTT und Genossen (Jena) von 50 ccm Inhalt ausführten, fanden wir unter Benutzung einer Lösung des Glutins 1 : 100000 folgende Farbenänderungen für verschiedene Mengen desselben : Nach Zusatz von 1 ccm einer 10%igen Kochsalzlösung zu 10 ccm hochroter kolloidaler Goldlösung, welche enthält :

0,0000050 g Glutin, schlägt diese in blau um.
0,0000075 g » » » » blau-violett um.
0,0000100 g » » » » violett um.
0,0000125 g » » » » rot-violett um.
0,0000150 g » » » » purpurrot um.
0,0000200 g » bleibt sie hochrot.

Diese Serie diente uns zum kolorimetrischen Vergleiche. Hier gibt eine bestimmte Nüance die Gegenwart einer bestimmten Menge Substanz an. 0,15 g wasserfreies Glutin wurde in 15 ccm zweimal destillierten Wassers in einer Platinschale gelöst und die

Lösung zum Gefrieren gebracht. Nach dem Wiederauftauen bewirkten 0,5 ccm des abfiltrierten Wassers in der Goldlösung eine Färbung, welche derjenigen mit 0,000015 g Glutin der obigen Serie glich ; 1 ccm des Filtrates schützte vollkommen die hochrote Farbe des Goldsols. Da nun 0,5 ccm des Filtrates 0,000015 g Glutin enthält, beträgt dessen ganze gelöste Menge 0,000450 g, was 0,3 % des Gewichtes des ausgeschiedenen Glutins entspricht. Wiederholte Gefrierungen desselben Glutins führten stets zu fast genau den gleichen kleinen Verlusten. Die Goldzahl unseres Glutins weicht von der von ZSIGMONDY und SCHULZ [1] für Leim angegebenen ab. Indem diese Autoren die Goldzahl in Milligrammen der Substanz ausdrücken, geben sie für Leim 0,005 bis 0,01 an ; die erste Zahl bedeutet teilweise Schutzwirkung — die Goldlösung wurde violett — während die zweite Zahl die obere Grenze angibt ; mit so viel Kolloid wurde die hochrote Goldlösung nach Kochsalzzusatz gar nicht verändert. Unser Produkt hat als untere Grenze 0,0075 und als obere 0,02.

Geeignetes Wasser zur Goldsolbereitung.

Eine bemerkenswerte Tatsache beobachteten wir während der Versuche, reinstes Wasser zur Herstellung des Goldsoles zu erhalten. Aus seinen zahlreichen Erfahrungen zieht ZSIGMONDY [2] den Schluß, daß organische Verunreinigungen die Ursache des Mißlingens von Versuchen zur Herstellung des Goldsoles seien. Eigentümlicherweise findet er aber, daß das im Silberkühler kondensierte Wasser einer zweiten Destillation für diesen Zweck besser sei als das unter Benutzung eines Kühlers aus Platin

[1] *loc. cit.*
[2] *loc. cit.*

gewonnene. Unsere ersten Versuche, reinstes Wasser herzustellen, führten wir in einer Retorte aus Jenaer-Glas aus. Mit dem erhaltenen Wasser gelangen von ungefähr fünfzig Versuchen zur Bereitung des Goldsols nur zwei. Wir gaben daher weitere Versuche mit diesem Wasser auf und destillierten unser Wasser nun aus einem Ballon mit Jenaglas, unter Benutzung eines Zinnrohres als Kühler. Obwohl das Destillat einen metallischen und etwas kautschukähnlichen Geruch hatte und bei seitlicher elektrischer Beleuchtung Partikelchen in feiner Suspension erkennen ließ, war seine Leitfähigkeit für den elektrischen Strom geringer, als die des vorigen und es erwies sich für die Herstellung des Goldsoles als vorzüglich geeignet. Diese gelang immer, selbst in Kolben aus gewöhnlichem, reichlich Alkali abgebendem Glase. Hierdurch kamen wir auf den Gedanken, daß vielleicht die Anwesenheit von Zinn in kolloidaler Lösung in diesem Falle die Hauptbedingung sei. Versuche bestätigten die Richtigkeit unserer Annahme. Einmal destilliertes Wasser, mit welchem es unmöglich war hochrotes Goldsol herzustellen, erwies sich dazu geeignet, nachdem es mit Zinn in Stücken, Marke « Kahlbaum », oder oft auch mit gewöhnlichen Stanniolblättern ½ bis 1 Stunde in Jenaer-Glasgefässen gekocht worden war!

2. Analysen.

Zur Vergleichung mit den Glutinen verschiedener Herkunft haben wir die vier genannten Sorten von Gelatinen einer näheren Untersuchung unterzogen und diese mit den Angaben in der Literatur in Einklang zu bringen versucht. Die Resultate haben wir in der unten stehenden Tabelle zusammengestellt.

Der Aschengehalt wurde bestimmt durch gewöhnliche Verbrennung von 1 bis 2 g Substanz in einer Platinschale mit oder ohne Zusatz von aschenfreiem Ammoniumnitrat.

Analysen der Gelatinen

Die Zahlen beziehen sich auf 100 g wasserfreie Substan

Art des Produktes	Stickstoff	Schwefel	Asche	Phosph
Glutin aus Knochen . .		0,13		
Glutin	17,86		0,61	
Käufliche Gelatine . . .		0,665 bis 0,74	1,74	
Glutin			0,6	
Knorpelleim	16,14		0,64	
Sehnenglutin	17,81	0,256	0,325	
Gereinigte Gelatine . .	17,9	0,71	1,26	
Glutin	18,12	0,57	0,7	
Gelatine				
Clutin	17,68	0,48	0,12	
Glutin		0,25 u. 0,5	0,13	
Glutin	18,2 bis 18,59	0,404-0,462	0,2 [1]	
Käuflicher Leim . . .		0,62		
Leim	18,13	0,28	2,95	
Gereinigte Gelatine . .		0,15	0,6	
Nelson's A-Gelatine . .			4,19	
Nelson's B-Gelatine . .			3,8	
Guter Leim		0,46	2,95	
Glutin			0,30	
Gelatine Grübler . . .		0,608	2,42	0,01
Gelat. Chicago Goldmarke			2,66	
» » Silbermarke			1,80	
Gelat. extra Coignet . .		0,440	1,42	0,012
Glutin Glübler . . . . unvollkommen dialysiert			0,094	
Glutin Chicago Goldm. . unvollkommen dialysiert			0,104	
Glutin Coignet . . . . unvollkommen dialysiert		0,257	0,125	
Glutin Grübler	18,05	0,237	0,025	nich
Glutin Coignet	18,10	0,237	0,025	

[1] Das in der vergleichenden Tabelle S. 410 vom Autor als aschenfrei bezeichnetes Produkt enthält laut Protokoll, S. 403 0,2 % Asche.

und Glutine

mit Ausnahme der Werte für den Wassergehalt.

Säuregrad n ccm. $\frac{n}{1}$ bei 40°	Säuregrad n ccm. $\frac{n}{1}$ bei 75°	Wasser	Literaturangaben
			Schlieper, *Liebigs Annalen* XLVIII, 379 (1846)
			Hofmeister, *Ztschr. f. physiol. Chem.* II, 321 (1879)
			Hammarsten, « « « IX, 305 (1885)
			Nasse, *Jahresber. f. Thierchem.* XIX, 32 (1889)
			Carl T. Mörner, *Arch. f. skand. Physiol.* I, 232 (1889)
			van Name, *Jahresb. f. Thierchem.* XXVII, 35 (1898)
			Chittenden u. Lolley, *Journ. of Physiol.* XII, 23 (1891)
			Paal, *Ber. d. Deutsch. chem. Ges.* XXV, 1202 (1892)
19,0 [2]			Camus u. Gley, *Arch. d. Physiol.* IX, 774 (1897)
			Faust, *Arch. f. exper. Path. u. Pharm.* XXXXI. 309 (1898)
			Carl T. Mörner, *Ztschr. f. physiol. Chem.* XXVIII, 471 (1899)
			Sadikoff, *Ztschr. f. physiol. Chem.* XXXIX, 403 (1903)
		16-19	Krummacher, *Ztschr. f. Biolog.* XLV, 310 (1904)
			Berthelot-Jungfleisch, *Chim. org.* II, 1307 (1904)
		18,96	
		17,10	Scott, *Kolloid-Ztschr.* I, 375 (1906)
		15,95	
			Weiske, *Ztschr. f. physiol. Chem.* VII, 465 (1883)
33	39	16,73	
29 [2]		17,1	
30 [2]		16,27	
12,5 [2]		17,55	
			Eigene Analysen
28	32	15,95	
23 [2]	27	14,85	

[2] Hier wurde bei gelinder nicht bestimmter Wärme gearbeitet.

Schwefelbestimmung.

Die Bestimmung des Schwefels bedurfte einer besonderen Methode. Die in der Literatur gefundenen Angaben über den Schwefelgehalt der Gelatine schwanken zwischen 0,13 und 0,747 %.

Besonderer Beachtung bedürfen die Arbeiten von Mörner [1]. Dieser Autor bediente sich der Liebig'schen, von Olof Hammarsten verbesserten Methode und findet in zahlreichen Fällen ¼ oder ½ % Schwefel. Diese Resultate veranlassen ihn, eine Hypothese aufzustellen, daß es in Bezug auf die Größe des Schwefelgehaltes zwei Typen Glutin gäbe, deren einer nur halb so viel Schwefel enthalte wie der andere.

Auf Grund unserer eigenen und der zitierten Versuche anderer waren wir der Meinung, daß man vorerst ein reines, aschenfreies Produkt haben müsse, ehe man sich über den Gehalt an Schwefel äußern dürfe, da ja die Asche notorisch schwefelhaltig ist, und daß ferner eine zuverlässigere Methode an die Stelle der gewöhnlich angewandten treten müsse. Alle diese Methoden, bei denen Differenzen von beispielsweise 0,16 bis 0,28 % zulässig sind, können keine sicheren Resultate geben, wenn es sich um einen so niedrigen Schwefelgehalt handelt. Die beste bis jetzt bekannte Vorschrift zur Schwefelbestimmung ist ohne Zweifel die letzthin von Pringsheim [2] publizierte. Dieselbe wurde erprobt und empfohlen von Abderhalden und Funk [3] für die Schwefelbestimmung im Harn. Nach Angabe des Autors soll man eine Substanz mit 50 bis 75 % brenn-

[1] *Ztschr. f. physiol. Chem.*, XXVIII, 481 (1899).
[2] *Berichte der Deutsch. chem. Ges.*, XXXXI, 4267 (1908).
[3] *Ztschr. f. physiol. Chem.*, LVIII, 331 (1908/9).

baren Stoffen (C, H, S) in Pulverform mit der 16- bis 18-fachen Gewichtsmenge Natriumsuperoxyd innigst mischen. Dieses Gemisch wird in einem Eisentiegel mit durchbohrtem Deckel mittels eines glühenden Eisendrahtes angezündet. Die Verbrennung erfolgt momentan. Darauf wird die Schmelze in Wasser gelöst und die Lösung von nicht oxydierten Kohlenteilchen abfiltriert. Das Filtrat wird mit Salzsäure schwach angesäuert und die Schwefelsäure mit Baryumchlorid in bekannter Weise gefällt. Dieses für gewöhnliche chemische Zwecke sehr bequeme und genügend genaue Verfahren ist in der Physiologie selten anwendbar. Die Substanz soll in Pulverform vorliegen; das Pulverisieren ist jedoch nicht immer möglich und im allgemeinen sehr schwer. Der geringe Schwefelgehalt nötigt, von wenigstens 2 g Substanz auszugehen, denen 32 bis 36 g Natriumsuperoxyd entsprechen. Die plötzliche Verbrennung einer so großen Menge des explosionsfähigen Gemisches kann schwerlich ohne Verluste erfolgen. Das wegen der unvollkommenen Oxydation erforderliche Filtrieren trägt zur Genauigkeit nicht bei. Das Natriumsuperoxyd — nach der Oxydation zum größten Teil Karbonat — erfordert zu seiner Neutralisierung ungefähr 100 g Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1,19. Die Lösung enthält schließlich ungefähr 35 g Salze, welche Menge im Verein mit dem ganzen Volumen der Lösung der quantitativen Ausfällung von Spuren (0,02–0,03 g) reinen Baryumsulfats nicht günstig ist. Diese Unvollkommenheiten lassen sich zum größten Teile durch eine Modifikation der Methode Pringsheims beseitigen: Erniedrigung der Temperatur und Beschränkung der angewandten Menge des Natriumsuperoxydes auf das notwendige Minimum.

Wir haben gefunden, daß eine bestimmte kleine

Wassermenge kein zu starkes Schäumen verursacht und gleichzeitig genügt, um eine plötzliche Explosion zu verhindern. Die Oxydation beginnt schon bei niedriger Temperatur und letztere kann allmählich bis zur Rotglut gesteigert werden.

2,0 g trockene Substanz — in Pulverform oder in Stückchen — werden in einem Nickeltiegel von ungefähr 120 ccm Inhalt mit 3,5 ccm Wasser angerührt. Vorausgesetzt, daß die Substanz 50–75 % verbrennbare Elemente (C, H, S) enthält, so fügt man zu der Mischung nach und nach in kleinen Anteilen 16 g Natriumsuperoxyd[1] hinzu, das man vorher in einem Gläschen mit eingeriebenem Glasstopfen abgewogen hatte. Nach jedesmaligem Zugeben des Superoxydes muß man unter Umrühren mit Hilfe eines Nickel- oder Platinstäbchens das Ende der Reaktion abwarten. Hat man von dem Oxydationsmittel etwas zu viel auf einmal zugesetzt, und geht die Schaumbildung zu heftig vor sich, so kann man sie durch Einstellen des Tiegels in recht kaltes Wasser mäßigen. Nach Zusatz der ganzen abgewogenen Menge von Superoxyd und nach Aufhören der starken Reaktion erhitzt man den Tiegel über einer kleinen Spiritusflamme allmählich bis zur schwachen Rotglut, indem man von Zeit zu Zeit die geschmolzene Masse gut umrührt. Um sich von der vollständigen Oxydation zu überzeugen, wirft man jetzt in die Schmelze eine kleine Messerspitze Superoxyd hinein; braust die Mischung etwa noch auf, so ist noch nicht alles oxydiert. Man trägt dann noch kleine Mengen des Oxydationsmittels ein, bis dieses kein Aufschäumen mehr verur-

[1] Wir benutzten das Natriumsuperoxyd von Kahlbaum; ein Versuch ohne Substanz gab mit Baryumchlorid keinen Niederschlag.

sacht. Das Superoxyd soll im kleinen Überschuß zugegen sein. Das Nickel wird hierbei etwas angegriffen und verleiht der Lösung der Schmelze eine schwach grünliche Färbung. Die Schmelze kann weiß erscheinen trotz unvollständiger Oxydation der Substanz. Eine unvollständige Oxydation — auch wenn nur 0,2 g des Oxydationsmittels fehlten — ließ die Menge des gefällten Baryumsulfates auf ungefähr die Hälfte fallen. Die nach der beschriebenen Methode gefundenen Werte für den Schwefelgehalt des Glutins weisen, nur sehr geringe Unterschiede auf.

S in 100 g Glutin GRÜBLER { 0,242 g / 0,232 g } Mittel : 0,237 g

S in 100 g Glutin COIGNET { 0,241 g / 0,234 g } Mittel : 0,237 g

Phosphorbestimmung.

Die Bestimmung des Phosphorgehaltes wurde nach der höchst empfindlichen und zuverlässigen Methode von Ch. DHÉRÉ und H. MAURIÇE [1] ausgeführt. Man ersieht aus den Versuchen, daß der Phosphor nur als Bestandteil der Verunreinigungen der Gelatine auftritt.

Säuregrad.

Die Bestimmung des Säuregrads der Gelatine und des Glutins ist eine nicht weniger delikate Operation als die Bestimmung des Schwefels und des Phosphors.

Man weiß, daß fast alle Gelatinen des Handels dem Lackmus oder dem Phenolphtaleïn gegenüber mehr oder weniger sauer reagieren ; dasselbe gilt von der aschen-

[1] *Comptes rendus de la Soc. biolog.*, LXIV, S. 635-637 (1908).

freien Gelatine — dem Glutin. Unsere Bestimmungen zeigten, daß zwei der besten Handelsgelatinen sehr ungleich stark sauer waren : die Gelatine Grübler war fast dreimal so sauer wie die Gelatine Coignet. Die Reinigung durch Dialyse setzte den Säuregrad der Gelatine Grübler herab und erhöhte den der Gelatine Coignet, so daß die Säuregrade der reinen Produkte einander nahe lagen. Eine wichtige Tatsache, die den früheren Forschern entgangen ist, ist die, daß der Säuregrad von der Temperatur wesentlich abhängig ist ; er ist um so höher, je höher die letztere ist.

Stickstoff.

Zur quantitativen Stickstoffbestimmung diente uns die klassische Methode von Dumas.

Wassergehalt.

Zur Bestimmung des Wassergehaltes wurden die Gelatinen bei 100° bis zum konstanten Gewichte getrocknet.

Beweise für die Reinheit des Glutins.

Die vergleichende Zusammenstellung der Gelatineanalysen gibt ein deutliches Bild von der Verschiedenheit der Handelsware und der aus ihr von verschiedenen Forschern dargestellten Glutine. Der Einfluß der Verunreinigungen auf die allgemeinen Eigenschaften der Gelatine ist ersichtlich. Wie sehr sich aber auch die genannten Autoren bemühten, das Glutin rein zu erhalten, so lassen doch die gelieferten Beweise für die Reinheit viel zu wünschen übrig. Obwohl alle außer der Entfernung der mineralischen Stoffe auch die der organischen Beimengungen im Auge hatten, prüften

sie ihre Produkte doch nur auf den Aschengehalt. Mörner [1] beispielsweise glaubt in seiner Reinigungsmethode eine « beachtenswerte Garantie für die Abwesenheit nahezu jeder denkbaren Verunreinigung — ausgenommen einen nicht hochgradigen Aschengehalt (0,25–0,75 %) » — sehen zu dürfen. Wir dagegen begnügten uns nicht damit, eine vollständige Demineralisation festzustellen, sondern suchten uns auch nach Möglichkeit von der Abwesenheit der organischen Fremdstoffe zu überzeugen. Daß ihre Entfernung eine notwendige Folge unserer Verfahren ist, geht aus einigen Reaktionen und folgender Überlegung hervor: Das Alkalisieren der Extraktionsflüssigkeit, das man zwecks Auflösung der Eiweißstoffe als unentbehrlich betrachtete, halten wir für überflüssig; denn dieselben sind, falls sie zugegen sind, in Wasser, wenn auch langsam, löslich, zumal da sie lange und mit viel Wasser behandelt werden. Sollten unter diesen Bedingungen einige der angeführten organischen Fremdstoffe, z. B. Chondroitinschwefelsäure und Nukleïne nicht gelöst werden, so müßten wir im ersten Falle einen höheren Schwefelgehalt, im zweiten die Gegenwart von Phosphor nachweisen können. Falls aber andere sich weder in Wasser lösen noch ihre Gegenwart durch den Schwefelgehalt oder die Reaktion auf Phosphor verraten sollten, so müßten diese — es wären dies die Globuline und Mucine — beim Auflösen des salzfreien Glutins in Wasser ungelöst bleiben oder, wenn sie in der reinen Glutinlösung zufällig löslich wären (ähnlich den Verunreinigungen der salzhaltigen Gelatine), bei der Erhitzung der Lösung koagulieren, was aber in der Tat nicht eintritt. Das bei längerer Hydrolyse des Glutins

[1] *loc. cit.*, 474.

allerdings beobachtete sehr geringe Koagulum gibt weder die Biuret- noch die Millonsche Reaktion.

Ein besonderes Verfahren zur Reinigung der Gelatine ist die von uns zuerst eingeführte, oben beschriebene Reinigung durch Gefrierung. Auch hier haben wir Garantien für die rationelle Abtrennung der Fremdstoffe. Nicht alle Körper besitzen die Fähigkeit, sich aus ihren Lösungen durch Ausfrieren abzuscheiden; tun dies aber einige, so gehen sie sicher bei Zimmertemperatur, bei der man ja die ausgeschiedenen Glutinflocken stehen läßt, wieder in Lösung und werden mit dem Filtrat entfernt; wären endlich einige in Wasser unlöslich, so würden sie auch wohl kaum im lauwarmen Wasser (33°), das zur Wiederauflösung der Glutinflocken notwendig ist, in Lösung gehen, sondern auf dem Filter bleiben. Übrigens haben wir zwischen dem durch Dialyse und durch Gefrierung hergestellten Glutin absolut keinen Unterschied gefunden. Diese Tatsachen lassen die Reinheit unseres Produktes als gesichert erscheinen, und wir glauben die beobachteten Eigenschaften des Glutins als die nur ihm zukommenden betrachten zu dürfen.

Millon's Reaktion.

Eine früher umstrittene Frage war die, ob die an der Gelatine beobachtete Reaktion von Millon jener selbst (dem Glutin) oder ihren Verunreinigungen zuzuschreiben sei. Während Neumeister [1] und Salkowski [2] diese Reaktion auf Verunreinigungen mit Proteïn-

[1] Neumeister, *Lehrb. d. physiol. Chem.*, II. Aufl., S. 63 (1897) Jena.

[2] Salkowski, *Practicum der physiol. und path. Chemie*, S. 267. Berlin 1893.

stoffen zurückführten, tritt VAN NAME [1] und CARL TH. MÖRNER [2] dieser Anschauungsweise entgegen ; letzterer stützte sich auf Versuche mit seiner weitgehend gereinigten Gelatine. Die manchmal übersehene MILLON'S Reaktion tritt immer ein, wenn sie unter Beobachtung gewisser von MÖRNER beschriebenen Vorsichtsmaßregeln ausgeführt wird. Daß die Intensität der Reaktion bei der Handelsgelatine und dem Glutin dieselbe ist, wurde von MÖRNER hervorgehoben und kann von uns bezüglich unseres reinen Glutins bestätigt werden. Bis dahin war man der Meinung, daß Tyrosin die Reaktion hervorrufe. Jedoch wiesen spätere Arbeiten von EMIL FISCHER [3], welcher die Amidosäuren in den Spaltungsprodukten der Gelatine untersuchte, kein Tyrosin in der Handelsware nach. Obwohl dieser Befund merkwürdig erscheint, da die gewöhnliche Gelatine doch sicher Proteïnstoffe enthielt, die Tyrosin liefern könnten, so muß man doch für bewiesen ansehen, daß auch andere Faktoren Ursache der MILLON'schen Reaktion sein können.

Tanninfällung.

Eine andere interessante Reaktion der Gelatine ist ihr von WEISKE [4] beobachtetes Verhalten gegen Gerbsäure. Dieser Autor berichtet, daß 5 ccm der 1%igen Gerbsäurelösung genügten, um in 10 ccm. ½%iger Gelatinelösung die gelöste Substanz vollständig auszufällen ; dagegen konnte er in einer Glutinlösung selbst nach Zusatz von 50 ccm Gerbsäurelösung keine Fällung

[1] *Journ. of experim. medic.*, II, 117 (1897).
[2] *Ztschr. f. physiol. Chem.*, XXVIII, 485 (1899).
[3] *Ztschr. f. physiol. Chem.*, XXXV, 70 (1902).
[4] *Ztschr. f. physiol. Chem.*, VII, 463 (1883).

hervorrufen. WEISKE arbeitete mit einem Glutin von 0,3–0,62 % Aschengehalt. Wir haben reine Versuche mit unserem aschenfreien Glutin wiederholt und das gleiche Resultat erhalten, wenn wir ein Handelstannin unbekannter Güte verwendeten. Versuche mit Acid. tannicum puriss. pulv. extrahell, Acid. tannicum leviss. puriss., Tannin puriss. pro analysi, alle drei von MERCK, Darmstadt, und mit Gerbsäure « KAHLBAUM » ergaben jedoch, daß das aschenfreie Glutin durch ihre Lösungen immer gefällt wird und sich in dieser Beziehung von der Gelatine nicht unterscheidet.

II. KAPITEL.

Physikalisch-chemische Eigenschaften des Glutins.

Physikalisch-chemische Eigenschaften des Glutins.

1. Eigenschaften des reinen Glutins.

Unsere Versuche mit reinem Glutin weichen natürlich in vielen Punkten von denen mit Gelatine ab. Zum Vergleiche haben wir in den meisten Fällen Parallelversuche mit der Gelatine ausgeführt.

Löslichkeit.

Dem Wasser gegenüber verhält sich das reine Glutin ganz eigentümlich. Es ist in ihm fast unlöslich ; nur durch höchst empfindliche Reagens, das wir auf S. 15 beschrieben haben, konnten wir eine sehr geringe Löslichkeit nachweisen. Durch verlängerte Extraktion des aschenfreien Glutins haben wir uns, wie auf S. 44 angegeben wird, zur Messung der elektrischen Leitfähigkeit ein Glutin « extra » hergestellt, welches an seine Macerationsflüssigkeit bei 0°–3° nur sehr kleine Spuren Substanz abgab. Von dem zweitägigen Macerationswasser, welches in der Menge von 400 ccm für 6,0 g Glutin gebraucht wurde, waren 50 ccm notwendig, um 10 ccm Goldsol zu schützen ; von dem Extraktionswasser von 5 Tagen genügten 20 ccm, um dieselbe Schutzwirkung auszuüben. Da die geschützte Goldlösung eine violette Farbe annahm, so ergab die Berechnung des gelösten Teiles nach S. 16, auf « Glutin » bezogen, 0,0013 % der macerarierten Substanz im Extraktionswasser von 2 Tagen und 0,0032 % in dem von

5 Tagen. Die Schutzwirkung der zuletzt verwendeten 20 ccm Extraktionswassers war genau dieselbe, wenn das Wasser unkonzentriert oder auf 7 oder 1 ½ ccm eingedampft untersucht wurde.

Bei der Maceration der Gelatinen ist der Verlust so groß, daß er am besten durch Wägung des macerierten Teiles festgestellt werden kann, wie wir später (S. 52) getan haben.

Gelatine GRÜBLER und COIGNET, bei 0°–3° mit ihrem vierzigfachen Gewichte Wasser 24 Stunden ausgezogen, lieferten Waschwässer, von denen 0,016 ccm im ersten und 0,0555 ccm im zweiten Falle zur Schutzwirkung genügten. Da bei dem angegebenen Volumen vom Waschwasser der Gelatine GRÜBLER die Goldlösung violett war und purpurrot bei dem von der Gelatine COIGNET, so war der Verlust auf Glutin berechnet 2,75 % bei Gelatine GRÜBLER und 0,945 % des Gewichtes der Gelatine COIGNET. Bei der Temperatur des Laboratoriums (16–17°) war die Gelatine mehr löslich. Die Goldzahl gab im Macerationswasser von 24 Stunden von der Gelatine GRÜBLER 10,8 % und von der Gelatine COIGNET 5,4 % der macerierten Substanz in Lösung an.

Die Löslichkeit des Glutins nimmt mit der Erhöhung der Temperatur bedeutend zu. Die Behauptung KÜHNE's [1] können wir insofern nicht bestätigen, als Natriumhydroxyl in $^1/_{10}$ Normallösung bei 0° die Löslichkeit nicht beeinflußte.

Sichtbar löslich ist das Glutin bei 33° C. Die Lösungs-

[1] KÜHNE, *Lehrb. d. physiol. Chem.*, 2. Aufl., 1866, S. 357 : « In kaltem Wasser quillt der Leim auf ohne sich zu lösen. Sehr geringe Mengen von Alkalien oder Säuren, dem Wasser zugesetzt, bewirken jedoch die Lösung schon in der Kälte ».

temperatur haben wir gemessen, indem wir das Glutin in Flocken auf Wasser in einerseits zugeschmolzene Röhre aus « Durax »-Glas hineinbrachten und letztere in ein Becherglas stellten, welches mit Wasser gefüllt, noch in einem zweiten Glase mit Wasser stand. Das Thermometer befand sich in einer anderen Duraxröhre mit ebensoviel Wasser wie die Glutinflocken in dem inneren Becherglase. Das äußere Becherglas wurde nun von unten sehr vorsichtig erhitzt. Bei 32,5° wurden die weißen Flocken ganz durchsichtig und verschwanden bei 33° gänzlich. [1]

Gelatinierung.

Die wässerige Lösung des Glutins gibt von 1 % an eine Gallerte (auf die wasserfreie Substanz berechnet). Eine $^3/_4$ %ige Lösung gibt eine flüssige Gallerte ; die schwächeren Lösungen sind ganz dünnflüssig. Bei der Gelatine fanden wir eine stärkere Gelatinierungsfähigkeit ; schon eine $^1/_2$ %ige Lösung lieferte eine feste Gallerte. Die Gelatinierungsversuche wurden in der Weise ausgeführt, daß man die Glutin- oder Gelatinelösung in Reagensgläschen von Jenaer Geräteglas von 16 mm Durchmesser herstellte und dieselben hierauf in Eiswasser abkühlte. Die Lösungen wurden wie immer bei der niedrigsten Temperatur nach vorhergehender Quellung bereitet ; sie wurden als gelatiniert angesehen, wenn sie nach 24 Stunden aus dem rasch umgekehrten Röhrchen nicht mehr flossen. Im Gegensatz zu dem Verhalten der Gelatinegallerten, waren die Lösungen des Glutins von 1 $^1/_2$ % abwärts nicht beständig ; 2 bis

[1] Die Frage der Löslichkeit der Gelatine wird von Ch. Dhéré, *Journ. de physiol. et pathol. génér.*, XIII, 162 (1911) besonders erörtert.

3 Wochen [1] bei 5–7° aufbewahrte, in zugeschmolzenen Röhrchen durch 2–3 minutenlanges Erhitzen auf 98° sterilisierte Glutinlösungen, ließen eine Trennung des Glutins von Wasser beobachten. Das Glutin zog sich als Schwamm immer mehr zusammen und erinnerte mit der überliegenden Schicht wasserheller Flüssigkeit an eine Gerinnung.

Gelatinierung ohne Asche.

Dieses Verhalten der Lösungen des aschenfreien Glutins erlaubt die von NASSE [2] herrührende Frage, ob aschenfreies Glutin überhaupt noch gelatiniere, zu beantworten. Schon MÖRNER [3] glaubte nach Versuchen mit seinem Glutin, diese Frage erledigt zu haben. Seine « Ermittelungen stehen in schroffem Gegensatz zu NASSE's Folgerungen ». Unsere Versuche zeigen jedoch deutlich eine Abnahme des Gelatinierungsvermögens, sowie starke Veränderung der Beständigkeit der Gallerte nach Entfernung der Verunreinigungen der Gelatine. MÖRNER erwähnt nur eine schädliche Wirkung der konzentrierten Salzlösungen auf die Gallertbildung und findet keine Veranlassung, einen entgegengesetzten Einfluß unter anderen Bedingungen zu vermuten. LUMIÈRE und SEYEWETZ [4] beschreiben die Erhöhung des Erstarrungspunktes der Gelatinelösung nach Zusatz von Tonerdesalzen und glauben an eine bestimmte chemische Verbindung der Tonerde mit Gelatine. TROT-

[1] Bei nicht sterilisierten Lösungen war die Entmischung oft schon nach einigen Stunden oder einigen Tagen deutlich wahrnehmbar.

[2] *Jahresber. d. Thierchemie,* XIX, 32 (1889).

[3] *Ztschr. f. physiol. Chem.,* XXVIII, 505 (1899).

[4] *Ztschr. f. wiss. Photogr.,* IV, 360 (1906).

MANN und HACKFORD [1] studieren die Beeinflussung der Festigkeit des Leimes durch verschiedene Körper. Ihren Angaben gemäß wird das Gelatinierungsvermögen durch Peptone, Alkalien, Säuren und fein verteilte Stoffe vermindert mit Ausnahme von Gips, der die Festigkeit bedeutend erhöht. Wir haben nun die Versuche mit unserem reinsten Produkte wiederholt und auf Calciumphosphat erweitert, um die Wirkung der zwei Hauptbestandteile der Gelatinenasche festzustellen. Für Gips können wir den Befund der letztgenannten Autoren bestätigen und haben bei Calciumphosphat eine gleiche Wirkung gefunden. Hiermit glauben wir die positive Bedeutung der Salze der Gelatine dargelegt zu haben. Die je nach der Menge des Elektrolytes günstige oder ungünstige Beeinflussung der Gelatinierung wird im III. Kapitel behandelt. Unsere späteren Feststellungen stimmen mit den Angaben von HACKFORD und TROTMANN in vielen Punkten nicht überein; wahrscheinlich nur wegen der Verschiedenheit der Versuchsbedingungen, da Versuche mit einer bestimmten Konzentration eines Elektrolytes nicht alle seine möglichen Wirkungen in dem Gelatinierungsvorgang des Glutins zeigen können.

Ausscheidung des Glutins aus seiner Lösung.

Die im Kollodiumsack erfolgte Dialyse einer ½%igen in gewöhnlichem Glase bereiteten Glutinlösung ließ anfangs annehmen, die Trennung des Glutins wäre eine Folge der Entfernung der Elektrolyte aus der Lösung durch lange Dialyse bei niedriger Temperatur. Dies war jedoch nur zum Teil möglich wie folgender Versuch lehrt. Eine ½%ige Glutinlösung (100 ccm) wurde in

[1] *Journ. of the Soc. of Chem. Indust.*, Nr. III (1906).

einem Becher aus hartem Glase bei einer Temperatur von 10–13° beiseite gestellt.[1] Die anfangs opaleszierende Lösung trübte sich stark und schied am dritten Tage zahlreiche Flocken aus, die in der trüben Flüssigkeit gleichmäßig verteilt waren. Am vierten Tage sah man das ausgeschiedene Glutin sich zusammenziehen und darüber die Flüssigkeit ganz klar werden. In 20 ccm dieser durch ein aschenfreies Filter im Nickeltrichter filtrierten Flüssigkeit wurde der Stickstoff bestimmt. Derselbe betrug 0,001862 g und entsprach 0,0536 g Glutin in 100 ccm der Lösung, was rund 10 % der ursprünglichen Substanz ausmacht.

Opalescenz.

Charakteristisch für das reine Glutin ist seine starke Opaleszenz bei gewissen schwachen Konzentrationen seiner wässerigen Lösungen. Daß von derselben bisher noch nichts berichtet worden ist, sondern im Gegenteil vollständige Klarheit der Lösungen von ZACHARIAS[2] und ARTH. MÜLLER[3] angegeben wird, erklärt sich aus dem Umstande, daß die Autoren nicht mit reinen Glutinlösungen zu tun hatten, da sie weder salzfreies Glutin verwendeten, noch sich besonders harter Gläser bedienten, die kein Alkali abgeben.

[1] Wir haben kein Antiseptikum zugesetzt, da wir einerseits die Wirkung desselben vermeiden wollten, andererseits weil eine gleiche Trennung bei sterilisierten, in zugeschmolzenen Röhrchen aufbewahrten Lösungen beobachtet wurde und weil eine salzfreie Lösung für Bakterienentwickelung wenig günstig war.

[2] *Koll.-Ztschr.*, I, 138 (1906).

[3] ARTH. MÜLLER, *Allgemeine Chemie der Kolloïde*, 94 (1907)

Einfluß des Glases.

Überhaupt muß man bei allen Arbeiten mit Gelatine und Glutin den Gebrauch gewöhnlicher Gläser vermeiden. Bevor wir diesen Einfluß bemerkten, haben wir zahlreiche unangenehme Erfahrungen gemacht. Die Resultate waren niemals konstant. Zufällig nur waren unter gleichen Bedingungen hergestellte Lösungen von gleicher Opalescenz. Die Serie von Glutinlösungen wies — wie die der Gelatine — bei 1%iger Konzentration die größte Opalescenz auf, während sonst die 1 ½%ige am stärksten opalesciert. Schon nach 5 Minuten langem Erhitzen auf 98° in zugeschmolzenen Reagensgläsern war eine Änderung eingetreten: z. B. opalescierte jetzt die vorher stark opalescierende und sehr schwach gelatinierte ¾%ige Lösung kaum noch und wurde fest, während in Jenaglas die Opalescenz noch nach einer Stunde sich kaum merklich schwächte. Indem wir die Veränderung der Eigenschaften des Glutins mit fortschreitender Hydrolyse verfolgen wollten, welche sich einerseits durch Schwächung der Opalescenz, andererseits dadurch kundzugeben schien, daß das Glutin aus seiner wässerigen Lösung nicht mehr durch Alkohol gefällt werden konnte, haben wir selten ganz gleiche Beobachtungen machen können. Welche Bedeutung in diesem Falle das Alkali hat, wird aus später beschriebenen Versuchen mit Alkohol (III. Kapitel) ersichtlich. Es wird auch verständlich, daß in gewöhnlichen Gläsern die Bestimmung der zur Fällung des Glutins aus seiner Lösung erforderlichen Alkoholmenge wegen unkonstanter Resultate unausführbar war. Durch Dialyse im Kollodiumsack gegen Wasser wurde diese Glutinlösung viel stärker getrübt als die in hartem Glase bereitete.

Sehr beeinflußt war naturgemäß auch die elektrische Leitfähigkeit der Lösungen. Die Bestimmung des Säuregrades in Gefäßen aus gewöhnlichem Glase ergab ebenfalls inkonstante Zahlen. Die Verluste an Substanz durch Gefrierung der Glutinlösung waren bedeutend größer. Alle diese Unregelmäßigkeiten wurden durch Versuche in Platinschalen klargelegt. Da es aber unmöglich war, alle Versuche in solchen Schalen auszuführen, so haben wir uns bemüht, uns ein möglichst gutes Glas zu verschaffen. Wir fanden, daß nach einem maßgebenden Zeugnis [1], das Jenaer Glas von SCHOTT und Gen. für unsere Versuche am zweckmäßigsten sei, obwohl es bei längerer Einwirkung auch Spuren von Alkali abgeben kann. Als noch widerstandsfähigeres Glas wurde von der genannten Firma das « Durax »-Glas empfohlen, das wir uns auch kommen ließen. Während unsere meisten gewöhnlichen Gläser an siedendes Wasser so leicht Alkali abgaben, daß man es nach der Einwirkung von einigen Minuten mit Phenolphthaleïn nachweisen konnte, röteten die beiden letztgenannten Sorten selbst nach 7- bis 8-stündigem Erhitzen Phenolphthaleïn nicht.

Auf die Wirkung der Alkalien dürfte die Beobachtung W. OSTWALD's [2] über die nach längerer Zeit eintretende Löslichkeit des Glutins in Wasser von 15–20° zurückzuführen sein, wenn man nicht die Wirkung von Mikroben annehmen will. Derselbe Autor studiert auch die Quellung seiner β-Gelatine, welche er durch Kochen einer 25%igen Lösung der Gelatine in gewöhnlichem Glaskolben herstellt ; die zweifache Wirkung des Alkali

[1] Gutachten der Reichsanstalt, Liste 390 von SCHOTT und Gen. Jena. Mars 1905.

[2] *Pflg. Arch.*, CIX, 287 (1905).

— auf die Quellung und die Hydrolyse — ist ihm unbekannt. Das Alkali der Gläser ist zum großen Teile die Ursache gewesen, daß die Opalescenz bis jetzt nicht hat beobachtet werden können. Auch HOFMEISTER [1] glaubte nicht die Wirkung der Alkalien berücksichtigen zu müssen, obschon er wohl merkte, daß bei seiner Hydrolyse des Glutins « aus dem Glase der Kochfläche reichlich Silicate in Lösung gingen ».

Die gründliche Reinigung unserer Jenaer Gläser wurde so bewerkstelligt, daß wir aus einem Dampfentwickler durch eine Röhre aus Durax-Glas Dampf in starkem Strome in die auf das Ende der Röhre aufgesetzten Gläser strömen ließen.

In Jenaer Reagensgläsern von 16 mm Durchmesser stellt sich die Opalescenz in Lösungen, die durch Auflösen des Glutins bei der niedrigsten Temperatur (33° bis 40°) nach vorhergehender Quellung bereitet worden sind, folgendermaßen dar :

Im durchfallenden Tageslicht erscheint eine Konzentration

von ¼ % kaum opaleszierend,
» ½ % wenig opal., bläulich,
» ¾ % stark opal.,
» 1 % sehr stark opal.,
» 1 ½ % sehr stark opal., mehr als 1 %,
» 2 % stark opal., weniger als 1 %,
» 2 ½ % stark opal., weniger als 2 %,
» 3 % stark opal., weniger als 2 ½ %
» 4 % opal., bläulich,
» 5 % wenig opal., bläulich,
» 7 ½ % kaum bläulich,
» 10 % nicht opal ;

[1] *Ztschr. f. physiol. Chem.*, II, 319 (1878).

Druckschrift von 3 mm Höhe ist durch $^3/_4$ und $2\,^1/_2\,\%$ige Lösungen hindurch kaum, durch 1- bis $2\,\%$ige gar nicht lesbar. Die stärkste Opalescenz nehmen wir bei der $1\,\%$igen Konzentration wahr ; sie wird stufenweise schwächer und verschwindet allmählich bei immer schwächeren und immer stärkeren Konzentrationen. Bei auffallendem Lichte und auf schwarzem Grunde stellt sich die Stärke der Opalescenz etwas anders vor : die $3\,\%$ige Lösung gleicht der $1\,\%$igen, die $3\,\%$ige ist mehr opalescierend als die $^3/_4\,\%$ige, die $2\,^1/_2\,\%$ige ist der $2\,\%$igen und der $1\,^1/_2\,\%$igen gleich, die $3\,\%$ige ist weniger opalescierend als die $2\,^1/_2\,\%$ige, die $7\,^1/_2\,\%$ige ist ein wenig bläulich. Die Verunreinigungen beeinflussen die Opalescenz wesentlich. Von unseren drei Photographien [1] stellt die erste eine Serie des sehr lange dialysierten Glutins aus der Gelatine « Coignet », die zweite die des weniger lange dialysierten und die dritte die des längere Zeit dialysierten Glutins aus der Gelatine « Grübler » dar ; beide waren praktisch aschenfrei.

In der zweiten Serie bemerken wir folgende Opalescenzstärken :

Konzentration $^1/_4\,\%$ fast klar,
» $^1/_2\,\%$ kaum opal., bläulich,
» $^3/_4\,\%$ wenig opal., blau,
» $1\,\%$ stark opal.,
» $1\,^1/_2\,\%$ sehr stark opal.,
» $2\,\%$ stark opal., mehr als $1\,\%$,
» $2\,^1/_2\,\%$ opal., etwas blau,
» $3\,\%$ opal., blau,
» $4\,\%$ wenig opal.,

[1] Wir verweisen auf die Illustrationen in der Publikation von Dhéré, *Journ. de Physiol. et de Pathol. génér.*, XIII, 1911, S. 157. Planche III, fig. 4. 5. 6.

Konzentration 5 % kaum opal., bläulich,
» 7 ½ % nicht opal.,
» 10 % nicht opal.

Auf schwarzem Grunde ist die 1%ige Lösung stärker opalescierend als die 3%ige, die 3%ige stärker als die 2½%ige; die 1½%ige ist der 2%igen gleich, jedoch stärker opal. als die 3%ige.

Die 1½%ige Lösung der ersten Serie ist deutlich stärker opalescierend als die gleiche der zweiten; einen gut sichtbaren Unterschied haben wir bei den ¾%igen Lösungen; die erste ist stark, die zweite wenig opalescierend.

Die dritte Serie beweist, daß das endgültige reine Produkt aus verschiedenen Gelatinen gleiche Opalescenz aufweist. Es ist zwischen der ersten und dritten Serie in dieser Beziehung kein Unterschied zu finden.

Bei den Lösungen der Gelatinen haben wir zwar auch Opalescenz festgestellt, jedoch war sie unter dem Einflusse der Verunreinigungen viel schwächer. Die Opalescenz ist stark bei der Gelatine « Grübler », ziemlich stark bei der Chicago-Gelatine mit Gold- und Silbermarke, aber kaum wahrnehmbar bei der Gelatine « Coignet », welche der Analyse gemäß am wenigsten sauer, daher am meisten alkalisch ist. Diese Vergleiche beziehen sich auf die für die Opalescenz günstigsten Konzentrationen.[1] Der Einfluß fremder Körper auf die Opalescenz wird im III. Kapitel behandelt.

Der Einfluß der Temperatur auf die Opalescenz wurde in der Weise festgestellt, daß sehr stark opalescierende Lösungen in Wasser allmählich bis 33°, dem

[1] Die Gelatinen zeigten bei der Konzentration von 1 % die stärkste Opalescenz; dieselbe glich beispielsweise bei der Gelatine Grübler der einer 3 %-igen Glutinlösung.

Schmelzpunkte des Glutins, erwärmt wurden. Bis etwa 24–25° blieb die Opalescenz unverändert, bei ungefähr 26°–28° wurden die stark opalescierenden, vorher undurchsichtigen Gallerten durchsichtig und opalescierten bedeutend schwächer ; gleichzeitig wurde die feste Gallerte brüchig. Nur in Fällen, wo die starke Opalescenz durch eine in Trennung begriffene Masse (suspendierte Flocken) verursacht wurde, war die Temperatur bis 32° ohne Einfluß ; bis bei 33° die Flocken plötzlich verschwanden und die Lösung wasserhell wurde.

Elektrische Leitfähigkeit.

Die elektrische Leitfähigkeit der Kolloïde ist, wie bekannt, ausschließlich von deren Reinheitsgrade abhängig. Da wir nun mit Produkten verschiedener Reinheit zu tun hatten, so suchten wir auch deren diesbezügliches Verhalten zu ihrer Unterscheidung zu benutzen. Zur Ausführung der Messungen diente uns die klassische Vorrichtung von KOHLRAUSCH. Die Temperatur der Messungen wurde durch OSTWALD's Thermostat auf 25° gebracht. Zur Lösung der Gelatinen verwendeten wir einmal destilliertes Wasser von der Leitfähigkeit $K^s = 2.10^{-6}$, für die Glutine ein in einer Retorte aus Jenaglas zum zweiten Male destilliertes Wasser mit $K^s = 1{,}8.10^{-6}$. Nur für das Glutin « extra » nahmen wir ein Wasser, welches bei der zweiten Destillation aus Jenaer Glaskolben im Zinnkühler kondensiert wurde ; es hatte die Leitfähigkeit $K^s = 1{,}45.10^{-6}$. Das Glutin « extra » haben wir hergestellt, indem wir unser aschenfreies Präparat so lange mit Wasser, das in der Retorte aus Jenaer Glas zum zweiten Male destilliert war (unter Benutzung von Jenaglas), bei 0°–3° behandelten, bis das Extraktionswasser von zwei Tagen

dieselbe Leitfähigkeit wie das frische Wasser besaß. Wir erreichten diesen Reinheitsgrad für 6 g Glutin nach 4 Wochen, indem wir fast alle drei Tage das Wasser in der Menge von 400 ccm erneuerten. Bei früheren Versuchen vollständiger Reinigung der Gelatine haben wir die Extraktion mangels der nötigen Einrichtung für die Messung elektrischer Leitfähigkeit nicht anders als durch chemische Reaktionen verfolgen können, infolgedessen war unser erstes reinstes Glutin ein Produkt, das noch während einiger Wochen Spuren von Elektrolyten an Wasser abgeben konnte.

Die spezifische Leitfähigkeit der untersuchten Produkte sehen wir in nachstehender Tabelle.

Art des Produktes	Ks = X . 10^{-6} der Lösung von: 0,5 % [1]	0,2 %	Aschengehalt des Produktes in %
Gelatine Chicago ‚Goldmarke'		128	2,66
» » ‚Grübler' .	269		2,12
» »		130	»
» » ‚Silbermarke'		67	1,8
» » ‚Coignet' . .	131		1,12
» » . .		57	»
Glutin (Coignet)	25,1		0,3
» (Grübler)	20,1		0,01
» (Coignet)	9,2		0,03
» (Grübler)	15,3		unwägbar
» » ‚extra' .	5,6		

[1] Die Prozentangaben der Konzentrationen beziehen sich, wie immer, auf wasserfreie Substanz.

Kataphorese.

Die Frage, welche elektrische Ladung der Gelatine oder dem Glutin zukomme, wurde in letzter Zeit von

mehreren Autoren recht verschieden beantwortet. Daß die Gelatine als ein negativ geladenes Kolloid angesehen wurde, erwähnt HENRI [1] zweimal ohne nähere Angaben. Eingehender behandeln diese Frage WHITNEY und BLAKE [2]; sie beobachten eine Wanderung der Gelatine an die Kathode und eine spätere Abstoßung nach der Mitte des Elektrodengefäßes hin. Ihre 0,2%-ige Gelatinelösung hatte die spezifische Leitfähigkeit $K^s = 68.10^{-6}$. Die Ergebnisse der Arbeiten dieser beiden Forscher führt HARDY [3] auf partielle elektrolytische Zersetzung der mineralischen Verunreinigungen der Gelatine zurück und erklärt letztere als unelektrisch ohne anzugeben, auf welche Versuche er seine Behauptung stützt. BILLITZER [4] untersuchte die Bedingungen der Überführung der Gelatine, deren Lösung sauer war, als solche sowie nach der Neutralisation mit Ammoniak und nach Zusatz von Ammoniak im Überschuß. In saurer Lösung wanderte die Gelatine an die Kathode, in ammoniakalischer an die Anode, während in der neutralisierten Lösung überhaupt keine Kataphorese stattfand. Unerklärlicherweise gibt BILLITZER die Konzentration seiner Gelatinelösung als ca. 0,1 % an, während 10 ccm der unveränderten Lösung 0,137 g Rückstand beim Verdunsten hinterließen. Die Lösung konnte kaum 1%ig sein, da diese doch gewöhnlich gelatiniert. Im schroffen Widerspruch zu einander stehen die Angaben von ISCOVESCO. Während dieser Autor im Mai 1907 [5] die Gelatine auf Grund seiner per-

[1] *C. r. Soc. Biolog.*, LV, 1666 und 1670 (1903).
[2] *Journ. Amer. Chem. Soc.*, XXVI, 1339 (1904).
[3] *Journ. of Physiol.*, XXX, 257 (1905).
[4] *Ztschr. f. physik. Chem.*, LI, 147 (1905).
[5] *C. r. d. Soc. de Biolog.*, I, 892 (1907).

sönlichen Versuche für elektropositiv erklärt, spricht er im September [1] desselben Jahres von der Gelatine als einem Kolloid mit negativer Ladung, ohne auf eine Besprechung des Gegensatzes einzugehen. Alle Autoren lassen den Grad der Reinheit der Gelatine unberücksichtigt. Wie sehr derselbe aber von Einfluß auf die elektrische Ladung der Gelatine ist, ersieht man aus unseren Versuchen. Zur Bestimmung der Richtung der Wanderung des Kolloides im elektrischen Gefälle dienten uns die üblichen U-Röhren, welche jedoch für unsere Zwecke aus Jenaglas hergestellt waren. Ferner benutzten wir zur quantitativen Messung der Überführung der Gelatine oder des Glutins eine besondere Vorrichtung von Ch. Dhéré [2]. Dieselbe gibt dort Fig. 3 (Planche II) wieder.

Jedes Gefäß war 2,2 cm breit und 10 cm hoch ; das ganze System hatte die Breite von 12,5 cm. Außerdem hatten wir eine ähnliche Vorrichtung mit nur zwei Gefäßen zur Verfügung. In die Elektrodengefäße tauchten Platinplatten als Elektroden. Die elektrische Spannungsdifferenz belief sich bei den Versuchen auf 125 bis 150 Volt.

Der Stromdurchgang durch eine 0,2%ige Lösung der Gelatine « Grübler » führte deutlich sichtbar die Trübung - die ausgeschiedene Substanz — bereits nach 1 Stunde gegen die Kathode hin. Nach drei Stunden wurde der Stickstoff in 15 ccm Anoden- und in ebensoviel Kathodenflüssigkeit nach Kjeldahl bestimmt. Die Anodenflüssigkeit lieferte eine Menge Ammoniak, die durch 3,8 ccm $^1/_{10}$ n Säure neutralisiert

[1] *Journ. de Physiol. et Path.*, IX, 801 (1907).

[2] Ch. Dhéré, *Journ. de Physiol. et de Pathol. génér.*, XIII, 170 (1911).

wurde; die der Kathode verbrauchte 4,2 ccm. Die Reaktion gegen Lackmuspapier war sauer an der Anode und alkalisch an der Kathode. Zu diesem Versuche diente der Apparat mit zwei Gefäßen. Mit dem Glutin (Grübler) 0,04 % Asche enthaltend, führten wir Versuche im Apparat von drei und zwei Gefäßen aus, ferner noch einen qualitativen im U-Rohr. Im ersten Falle wurde eine ungefähr 0,35%ige Lösung des Glutins in zweimal destilliertem Wasser dem elektrischen Strome bei 14° ausgesetzt. Bei der Spannungsdifferenz von 130 Volt ging $^1/_{100}$ Milliampère hindurch. Nach 6 Stunden war die Wanderung gegen die Kathode wahrnehmbar. Nach 23 Stunden hatte das System folgendes Aussehen: Im Anodengefäß schwache Opalescenz, im Mittelgefäß schwache Opalescenz, Flocken in Suspension, im Kathodengefäß mittelschwache Opalescenz. 5 ccm jedem Gefäß nach inniger Mischung seines Inhaltes entnommen, ergaben Ammoniakmengen, die vom Anodengefäß 2,5, vom Mittelgefäß 3,8 und vom Kathodengefäß 3,6 ccm $^1/_{10}$-n-Ammoniak entsprachen. Hier hatte der lang andauernde Stromdurchgang sekundäre Wirkungen hervorgerufen, das Glutin wurde von der Kathode abgestoßen. Nach 17stündiger Durchströmung des Apparates mit zwei Gefäßen war in einer ca. 0,4%igen Lösung des gleichen Glutins eine Wanderung zur Kathode deutlich sichtbar. Die Ammoniakmenge ($\frac{n}{10}$) in je 5 ccm betrug im Anodengefäß 3,85 ccm, im anderen Gefäß 4,2 ccm.

Auch bei dem Versuch im U-Rohr erfolgte eine regelmäßige und deutliche Wanderung in der Richtung der Kathode während der ersten 3 Stunden, hierauf Abstoßung von der Kathode.

Andere Resultate erhielten wir mit dem Glutin ohne Asche und dem Glutin «extra». Die Lösungen der-

selben in der Konzentration von ungefähr $\frac{1}{2}$ % in zweimal destilliertem Wasser, welche gut opalescierten, ließen immer unter den gleichen Bedingungen im U-Rohr eine Wanderung ihrer kolloidalen Partikelchen in der Richtung der Anode beobachten. Der bei ungefähr 150 Volt Spannung und bei 17° hindurchgehende Strom hatte die abnehmende Stärke von 5 bis 1,2 hundertstel Milliampère [1] in Lösungen des fast aschenfreien Glutins und höchstens ein hundertstel Milliampère in denen des Glutins « extra ». Die Kataphorese konnte man bereits in einer Viertelstunde wahrnehmen. Die Flüssigkeitsschicht über der Kathodenspirale wurde zunächst klar, und die Opalescenz wurde immer mehr nach unten von der Kathode weggestoßen. Zu gleicher Zeit wurde die Flüssigkeit um die Anode herum immer trüber und nach einigen Stunden vollkommen undurchsichtig. Eine diesbezügliche Photographie (Fig. 12) finden wir in Dhéré's Publikation [2]. Das reinste Glutin ist deutlich sauer und elektro-negativ, während jede künstliche Ansäuerung (mit H_2SO_4 z. B.) es positiv ladet. Diese Tatsache ist im Einklang mit der Theorie von Loeb [3], der zufolge die Kolloide mit saurem Charakter elektro-negativ und die mit alkalischer Reaktion elektro-positiv sind.

Struktur.

Die durch Gefrieren ausgeschiedenen Glutinflocken sehen unter dem Mikroskop wie lose, sehr feine und sehr lange Fäden aus und scheinen oft netzartige Struk-

[1] Die Stromstärke nimmt mit der Zeit des Durchgangs ab.

[2] *Journ. de Physiol. et de Pathol. génér.*, XIII. Pl. IV (1911).

[3] Loeb, *La Dynamique des Phénomènes de la vie*. Paris 1908, S. 76.

tur aufzuweisen, sind jedoch in ihren Kreuzpunkten nicht verbunden, da man sie mit Hilfe einer feinen Nadel auseinander reißen kann.

Wir sehen diese Fäden in 75fachen Vergrößerung in Fig. 1 (Pl. II) der zitierten Publikation von DHÉRÉ. Diese Struktur scheint dem Glutin eigentümlich zu sein und könnte zu dessen Erkennung dienen. Gefrorene Agar-Agar und Corrageengallerte zeigten wesentlich andere Fäden. In den Publikationen von BÜTSCHLI [1] und HARDY [2], die sich mit der Untersuchung von Strukturen der Kolloide befaßten, bemerken wir keine Ähnlichkeit mit der abgebildeten Form der Glutinflocken. Diese Autoren fanden stets Waben- und Netzstruktur. Beim Eindampfen oder Ausfrieren von Stärkelösungen oder Fällung derselben durch Tannin sah BÜTSCHLI feinwabige Strukturen entstehen; auch durch Ausfällen hergestellte Kieselsäuregallerte wies eine «feinwabige Hohlräumchenstruktur» auf. «Geronnene kolloidale Stoffe z. B. Gelatinefällung mit 2 % Gerbsäure, Chromsäure oder Alkohol, Eiweiß, welches durch Hitze oder Salzwirkung gefällt wurde, Fällung von arabischem Gummi mit Alkohol zeigten dem Forscher vorzügliche Wabenstrukturen.» HARDY beschreibt ein offenes Netzwerk bei durch Hitze koaguliertem Eiweiß, ein geschlossenes Netzwerk bei durch Sublimat gefällter Gelatine. Die Befunde der genannten und anderer Autoren gaben Veranlassung zu verschiedenen theoretischen Annahmen, welche wir im angeführten Werke von MÜLLER [3] zusammengestellt

[1] *Mikrostruktur künstl. und natürl. Kieselsäuregallerten.* Heidelberg 1900.

[2] *Journ. of Physiol.*, XXIV, 158 (1899).

[3] *Arth. Müller, Allgem. Chem. der Kolloide,* Leipzig 1907, S. 90.

finden. Von einer Beeinflussung der Eisformenbildung durch gelöste Salze bei Gegenwart von Gelatine berichtet R. Liesegang [1].

Die Quellung.

Die Angaben über die Wasserabsorptionsfähigkeit der Gelatine sind sehr verschieden. Scott [2] gibt für Kabinettleim den Absorptionskoëffizienten 6,2 an, d. h., daß die Substanz das 6,2fache ihres eigenen Gewichtes an Wasser aufnehmen kann; für Leim I. Qualität ist der Koëffizient 10,4, für billigen Leim 5,88, Klebleim 6,10. Schroeder [3] findet den Koëffizienten von ungefähr 10,0. Ostwald [4] untersucht den Einfluß von Säuren und Alkalien auf das Quellungsvermögen der Gelatine und beobachtet eine Verstärkung desselben durch beide; er nimmt nebenbei einen Einfluß der Temperatur wahr. Richet [5] spricht von einem Absorptionskoëffizient von ungefähr 40 für Gelatine in lauwarmem Wasser.

Zur Bestimmung der Koëffizienten bedienten wir uns folgenden Verfahrens: Ungefähr 0,1 g der Substanz in Blattform wurde in einer Platinschale mit Wasser übergossen. Nach der Quellung wurde das Blättchen zwischen Filterpapier, ohne stark zu pressen, abgetrocknet und möglichst schnell auf einem Uhrgläschen gewogen. Da wir bei diesen Versuchen kein Antiseptikum hinzusetzten, so haben wir von den zahlreichen Versuchen nur die mit konstanten Größen als maßgebend angesehen. Obwohl wir einige Male die Beein-

[1] *Koll.-Ztsch.*, I, 365 (1906).
[2] *Kolloid-Ztschr.*, I, 375 (1906).
[3] *Ztschr. f. physik. Chem.*, XLV, 75 (1903).
[4] *Pflg. Arch.*, CVIII, 569 (1905).
[5] *Dictionnaire de Physiologie*, VII, 44 (1907).

flussung der Quellung — besonders bei der salzhaltigen Gelatine — durch Mikroorganismen wohl merkten, hielten wir den Zusatz eines Antiseptikums nicht für zweckmäßig, da dann auch seine Wirkung auf die Quellung zu berücksichtigen gewesen wäre. Wir haben die anormalen Größen einfach außer acht gelassen. Das Glutin verschiedener Herkunft absorbierte bei gleicher Temperatur und in gleicher Zeit gleiche Mengen Wasser. Quellungsversuche in der Luftleere zeigen keinen Unterschied von den unter gewöhnlichem Druck ausgeführten. Das Quellungsvermögen der Gelatinen ist ganz von ihren Verunreinigungen abhängig, daher oft sehr verschieden. Die Gelatinen erleiden bei der Maceration Substanzverluste, welche in unserem Falle bei der Gelatine von GRÜBLER noch 24 Stunden 7,2 % und bei der von COIGNET 7,5 % des ursprünglichen Gewichtes der Substanz betrugen. Diese Gelatinen wurden bei 18° mit ihrem hundertfachen Gewichte Wasser digeriert. Der Koëffizient ist auf das ursprüngliche Gewicht der wasserfreien Substanz bezogen. Von Interesse schien uns auch die Quellungserscheinung bei Natriumglutinat zu sein. Letzteres erhält man durch Neutralisierung der Glutinlösung bei 40–50° mit verdünnter Natronlauge und Phenolphthalein als Indikator und Trocknen der Gallerte. Das Quellungsvermögen der künstlichen Collagene, die am Ende diese Kapitels näher beschrieben werden, wird mit steigender Herstellungstemperatur derselben immer schwächer. Während die Absorptionsfähigkeit des Collagens von 99° derjenigen des Glutins sehr nahekommt, ist die des Collagens von 110° schon mehr als bis auf die Hälfte und die des Collagens von 130° auf ein Drittel des Wertes gesunken. Auch hier finden wir einen Verlust an Substanz durch Maceration, obwohl die Produkte aus reinem Glutin hergestellt

wurden. Das Gewicht des Collagens von 110° wurde in 66 Stunden auf 77,07 % des ursprünglichen reduziert, während das von 130° nach 3 Tagen noch 85,66 % aufwies. Diese Macerationen der Collagene wurden bei gewöhnlicher Temperatur ausgeführt. Ihr merkwürdiges Ergebnis findet später seine Erläuterung. In der nachstehenden Tabelle haben wir unsere Resultate zusammengestellt. Die Zahlen geben den vorher beschriebenen Koëffizienten der Absorption direkt an.

Substanz	Temperatur der Quellung	Dauer der Quellung				
		5 St.	24 St.	2 Tage	3 Tage	5 Tage
Glutin (Coignet) . .	13°		5,14	5,5		5,5
» (Grübler) . .	13°		5,14			
» (Coignet) . .	19°	5,3	5,5			
» (Grübler) . .	19°	5,3	5,7	5,7		
» (Grübler) . .	28°	8,9				
Glutin Collagen von 99° [1]	19°	5,0				
» » 110°	17°		2,0			
	(auch 45° u. 99°)	2,00)				
» » 130°	16°	1,6	1,6			
Natriumglutinat (Grübler)	19°			42	41,8	40,2
» (Coignet)	18°		40			46

Obwohl diese Zahlen wegen der Unvollkommenheit der Bestimmungsmethode nicht streng richtig sein können, besonders bei dem sehr stark quellenden Natriumglutinat, so sind sie doch genau genug, um eine Einsicht in die Bedingungen der Quellung zu gewähren. [2]

[1] Einige Zehntelgrade über dem Siedepunkt bei uns in Freiburg (710 mm mittlere Barometerhöhe).

[2] Eine genaue Studie über die Quellung ist von Ch. Dhéré, veröffentlicht: *Journ. de Physiol. et de Pathol. genér.*, XIII, 167 (1911).

Der Einfluß der fremden Körper in der Gelatine und der der Temperatur auf ihr Absorptionsvermögen ist klargelegt. Wir sehen, daß das reinste Glutin am wenigsten Wasser absorbiert, ein Koëffizient, der in der Literatur bisher noch nicht angegeben werden konnte. Es ist leicht einzusehen, daß die Bestimmung in Alkali abgebenden, gewöhnlichen Gläsern entsprechend höhere Zahlen ergeben muß.

2. Umwandlungsprodukte des Glutins.

Bei höherer Temperatur erleidet das Glutin eine Veränderung, sowohl bei Abwesenheit wie bei Gegenwart von Wasser. Die von HOFMEISTER [1] studierten Umwandlungen sind gemäß den Versuchsbedingungen von unseren Beobachtungen wesentlich verschieden. Er behauptet, die Umwandlung des Glutins in die nicht wasserlösliche Modifikation, das Collagen, könne nicht bei 100°–120° vor sich gehen, ohne anzugeben, wie lange die Substanz der betreffenden Temperatur ausgesetzt war. Sein bei 130° erhaltenes Collagen wurde durch zweistündiges Erhitzen mit Wasser im zugeschmolzenen Rohr bei 120° in gelatinierenden Leim zurückverwandelt. Seine Hydrolyse des Glutins ergibt zwei Körper, welche sich durch ihr Verhalten gegen Alkohol von einander unterscheiden. Die Erklärung dieser Widersprüche gegenüber unseren Feststellungen findet man in unseren Berichten.

Umwandlung durch trockene Erhitzung.

Zum Studium der Umwandlungsverhältnisse des Glutins stellten wir es in Pulverform her. Durch Alko-

[1] *Ztschr. f. physiol. Chem.*, II, 313 (1878).

hol gefälltes Glutin in zusammenklebenden Flocken wurde 24 Stunden in der Luftleere über Schwefelsäure getrocknet und dann in einem Porzellanmörser möglichst fein gepulvert. Hierauf wurde das Pulver in der Luftleere eine Woche lang bis zum konstanten Gewicht entwässert. Wir erhielten so ein weißes, stark hygroskopisches Pulver und verwendeten davon 1,6122 g zum Versuch. In einem Gläschen 24 Stunden lang bei 85° erhitzt, verlor das Pulver 0,0075 an Gewicht. Zur Bestimmung des Beginns der Unlöslichkeit wurde gleichzeitig Glutin in Blattform in derselben Weise behandelt. Bei 85° erwies sich die Löslichkeit gar nicht verändert. Nach Erhöhung der Temperatur auf 99° erhitzten wir die Substanz bis zum konstanten Gewicht, was am sechsten Tage erreicht wurde. Die Substanz wog 1,5810 und hatte somit 1,936 % ihres ursprünglichen Gewichtes in der Luftleere verloren. Zu gleicher Zeit mit dem konstanten Gewicht stellte sich die Unlöslichkeit ein; ein Stückchen des Glutins in Blattform, 6 Stunden lang in Wasser gequollen, löste sich nicht mehr in dem zum Sieden erhitzten Wasser. Die Erhöhung der Temperatur auf 105° hatte ein Fallen des Gewichts auf 1,5762 g zur Folge. Dieser Verlust entspricht 2,23 % des ursprünglichen Gewichts in der Luftleere und 0,303 % von dem bei 99°. Bei dieser Temperatur war das Pulver etwas gelblich geworden, ebenso die Blätter; jedoch war ein deutlicher Unterschied sichtbar zwischen der Intensität der Farbe dieser Blätter und der anderer Collagene, die aus weniger stark entwässertem Glutin bereitet wurden. Bei 110° betrug das konstante Gewicht 1,5740 g, der Verlust also 2,37 % des ursprünglichen Gewichtes. Das Pulver wurde deutlicher gelblich. Bei 130° verminderte sich das Gewicht auf 1,5340 g, was einem totalen Verluste von 4,85 % ent-

spricht. Die Farbe der Substanz war gelb; diese war zum Teil zersetzt; denn mit Wasser befeuchtet, entwickelte sie einen sehr deutlichen Geruch nach Buttersäure.

Die Färbung der Substanz bei höherer Temperatur ließ den Gedanken aufkommen, außer Collagen könne sich dabei ein anderer gelber Körper gebildet haben, der mit dem Endprodukte der Hydrolyse Ähnlichkeit hätte. Untersuchungen in dieser Richtung ergaben, daß die neuentstandene gelbe Substanz aus dem Collagen durch Wasser bei gewöhnlicher Temperatur ausgezogen werden konnte. Das durch gutes Auswaschen fast entfärbte Collagen von 110° wird, in Wasser gequollen und wieder bei 110° erhitzt, noch stärker gelb. Dieser gelbe Körper kann wieder mit Wasser ausgezogen werden. Wir haben beobachtet, daß das bei 110° erhitzte Glutin um so weniger gelb wurde, je wasserärmer es war. Gut getrocknetes Glutin in Blattform mit 7,9 % Wassergehalt wurde bei 110° nur schwach gelb, nahm dagegen eine stark gelbe Farbe an, wenn es vor der Erhitzung in Wasser gequollen worden war.

Je gelber das Collagen von 110° war, desto mehr Substanz gab es an Wasser von gewöhnlicher Temperatur ab. Eine Spaltung des Glutins bei 110° infolge der Gegenwart von wenig Wasser ist unbestreitbar. Während die ursprüngliche Substanz bei gewöhnlicher Temperatur unlöslich ist, wenn sie auch keiner hohen Temperatur zur Lösung bedarf, so liefert sie durch ungefähr achttägiges Erhitzen bei 110° ein Gemisch, von dem ein Teil in kaltem Wasser löslich ist, der andere aber höheres, länger anhaltendes Erhitzen zu seiner Lösung erfordert.

Der Gewichtsverlust des Collagens von 110° in Wasser betrug, wenn zu seiner Herstellung Glutin mit

15 % Wasser verwendet worden war, bei gewöhnlicher Temperatur 22,93 %. Die Rückbildung von Glutin aus Collagen durch Hydrolyse bei Siedetemperatur war nur beim Collagen von 99° möglich. Versuche mit Collagen von 110° waren bei der Siedetemperatur ohne Erfolg, auch als wir die zur Beschleunigung der Umwandlung des natürlichen Collagens von SADIKOFF [1] empfohlene Monochloressigsäure verwendeten. Nur durch Maceration bei 40° haben wir die Glutinierung [2] festgestellt. 1,0 g Collagen von 110° wurde mit zwanzig Teilen Wasser übergossen, mit einigen Tropfen Toluol versetzt und in den Brutschrank von 40° gestellt. Nach 10stündiger Maceration gelatinierte der durch Einkochen konzentrierte Wasserauszug. Weitere Macerationen des gleichen Collagens verursachten stets Glutinbildung, bis nach 30 Tagen das Collagen sich gänzlich aufgelöst hatte. Die Geschwindigkeit dieser Umwandlung haben wir unabhängig von der verwendeten Wassermenge gefunden. 1,0 g Collagen, in einem Falle mit 20,0, in einem anderen mir 200,0 Wasser maceriert, verlor in 5 Tagen gleichviel an Gewicht. Die auf Filtern gewaschenen und in der Luftleere über Schwefelsäure bis zum konstanten Gewicht getrockneten Rückstände unterschieden sich nur um 0,02 g (0,804 und 0,784). Das Collagen von 130° ging bei 40° selbst nach 30 Tagen nicht in Lösung ; ein Teil desselben, der auch bei gewöhnlicher Temperatur ausgezogen wird, besaß die Eigenschaften des durch Hydrolyse des Glutins bei 100° erhaltenen Endproduktes, des β-Glutins.

[1] *Ztschr. f. physiol. Chemie,* XLVIII, 136 (1906).

[2] Auf seine sonstigen Eigenschaften wurde dieses Glutin nicht geprüft.

Hydrolyse.

Das Glutin wurde zwecks Hydrolyse in einem Schrank von 99° in einer Platinschale mit oft ergänztem Wasser behandelt. Die Lösung gelatinierte immer schwächer, wurde gelb, nahm einen schwachen Geruch nach Bouillon an und ließ schließlich nach 4–5 Tagen beim Verdampfen einen Rückstand, welcher, bei 110° getrocknet, sich leicht in lauwarmem und binnen einigen Stunden auch im kalten Wasser löste. Dieser Versuch bedeutet das Ende der Umwandlung; denn wäre noch unverändertes Glutin vorhanden gewesen, so würde es bei 110° Collagen werden, das in kaltem Wasser gar nicht und in heißem schwer löslich wäre. Während der Hydrolyse der Gelatine bemerkten einige Autoren Ausscheidung von weißlichen oder braunen Flocken. Wolfg. Ostwald [1] stellt sich die Frage, ob dieses Gerinnsel eine Verunreinigung der Gelatine durch einen Eiweißkörper oder eine Salzkoagulation des Leimes bei erhöhter Temperatur oder eine Koagulation der Gelatine, entsprechend anderen Emulsionskolloiden, bedeute. Auch Bütschli [2] und Quincke [3] berichten vom Koagulum. Letzterer hält es für erstarrten Schaum. Wir haben gleichfalls auf diese Ausscheidung geachtet. Wir fanden die Flocken in weit größerer Menge bei der Hydrolyse der Gelatine als bei der des Glutins: Die nach einer gewissen Zeit in sehr kleiner Menge beim Glutin auftretenden Flocken verschwanden gänzlich bei fortschreitender Hydrolyse, die der Gelatine blieben anscheinend unverändert und verliehen

[1] *Pflg. Arch.*, CIX. 282 (1905).
[2] Bütschli, *Untersuch. über Strukturen*. S. 54. Leipzig (1898).
[3] *Drude's Annalen*, X, 485 (1903).

dem Endprodukt ein trübes Aussehen. Nach Auflösung der hydrolysierten Gelatine, der β-Gelatine, im Wasser, wurde das Gerinnsel auf dem Filter gesammelt, gewaschen und mit MILLONS' Reagens und dem Biuretreagens geprüft ; beide Reagentien ergaben jedoch keine positive Reaktion auf Proteïnstoffe.

In Bezug auf die Konsistenz ist unser β-Glutin der β-Gelatine von TRAUBE [1] ähnlich. Mit sehr wenig Wasser gibt es bei niedriger Temperatur eine Art Gallerte, welche einige Grade höher leicht flüssig wird. In trockenem Zustande stellt das β-Glutin eine amorphe, harte, durchsichtige, gelbe, leicht zerbrechliche Masse dar, welche sich in Wasser zu einer schleimigen Flüssigkeit auflöst. Eine dickflüssige Lösung des β-Glutins gibt mit 6–10 % Alkohol gemischt nach dem Abkühlen in Eiswasser eine weiße, undurchsichtige Masse, welche ganz so wie geronnenes Eiweiß aussieht ; diese Masse schmilzt schon einige Grade über 0°. In Alkohol ist unser Produkt unlöslich. Es wird durch letzteren aus der Lösung in Wasser gefällt. Die Fällung wurde verhindert durch die Gegenwart von Kaliumchlorid, Natriumhydroxyd, nicht aber durch Calciumchlorid.

Nachdem wir einen physikalischen Unterschied zwischen dem Glutin einerseits und den Collagenen von 110° und 130° festgestellt hatten, war es leicht einzusehen, daß die Hydrolysen dieser Körper nicht gleiche Resultate liefern konnten. Für das Collagen von 110° haben wir dies quantitativ zu beweisen versucht. 0,9956 g Collagen wandelten sich in 1,0056 g bei 110° getrocknetes β-Glutin um ; 0,6411 g des Glutins in Pulverform lieferten 0,6400 g Umwandlungsprodukt. Da nun das Collagen von 110° bei 130° 1,41 % seines

[1] Citiert von Wolfg. Ostwald, *Pflügers Arch.*, CIX, 277 (1905)

Gewichtes, das Glutin aber 4,85 % verlor, so betrug ihr zum Vergleiche auf Trockensubstanz von 130° reduziertes Gewicht 0,9815 bzw. 0,6103 g. Die Gewichtszunahme des Collagens von 110° durch Hydrolyse betrug nur 2,45 % und die des Glutins 4,86 %. Wir halten unser Collagen von 110° als zum Teil schon hydrolysiert und daher als weniger fähig, Wasser aufzunehmen.

Längeres Erhitzen des β-Glutins bei 130° hat eine merkwürdige Eigenschaft in ihm entdecken lassen. Nach 3 bis 5 Tagen besaßen die β-Glutinstücke das Vermögen in Wasser zu quellen, ohne sich darin, selbst nach 3 Stunden bei Siedetemperatur, zu lösen. Die Erscheinung dürfte einen Fall der Rückbildung des Collagens aus β-Glutin bedeuten. Einige Versuche, dieses unlösliche Produkt wieder in Glutin überzuführen, mißglückten zwar, die Möglichkeit dieser Rückwandlung ist aber sehr wahrscheinlich.

Durch die Rückbildung von Collagen aus β-Glutin glauben wir, erklären zu können, weshalb das Collagen von 130° weniger Substanz an Wasser von gewöhnlicher Temperatur abgibt als das von 110°. Während das Collagen von 110° sein ganzes unverändertes β-Glutin an Wasser abgeben kann, so tut dies das Collagen von 130° nur zum Teil, da bei ihm anfangs entstandenes β-Glutin bei 130° unlöslich geworden ist.

Löslichkeitsverhältnisse.

Je höher die Temperatur war, bei der das Glutin zum konstanten Gewichte [1] erhitzt wurde, um so größer ist der Widerstand, den sein Collagen der Einwirkung des Wassers entgegensetzt. Während das Collagen von

[1] Man erreicht das konstante Gewicht in ungefähr fünf Tagen.

99° schon nach einigen Stunden in Lösung geht, ist die vollständige Lösung des Collagens von höherer Temperatur entsprechend schwieriger zu erreichen. Bei einer und derselben Temperatur ist die Dauer des Erhitzens von wesentlicher Bedeutung. Wir haben die fortschreitende Einwirkung der Temperatur auf die Löslichkeit des Collagens von 110° näher beobachtet und die Resultate in einer Tabelle zusammengestellt. Die Substanzen wurden alle gleichmäßig erhitzt; in gewissen Zeiten wurden ihnen Proben entnommen, welche mit dem Hundertfachen ihres Gewichtes Wasser in Jenaer Röhrchen eingeschmolzen und in einen Schrank von 100° gebracht wurden. Man untersuchte die Proben ungefähr alle ½ Stunden und schüttelte sie bei dieser Gelegenheit. Wie man sieht, erreicht das Collagen seine endgültige Schwerlöslichkeit erst am achten Tage. Wir bemerken ferner einen deutlichen Unterschied zwischen den Produkten des Glutins und der Gelatine.

Zeit der Lösung, in Stunden ausgedrückt

Substanz	Erhitzt bei 110°			
	1 Tag	3 Tage	6 Tage	8 Tage
Gelatine Grübler	1 ½	3	6	7
Glutin »	2 ½	5 ½	12	16
Gelatine Coignet	1 ½	3	5 ½	7
Glutin »	2 ½	6	13	16

Die Asche der Gelatine, dem Glutincollagen im entsprechenden Verhältnis zugesetzt, vertrat nicht die Rolle der natürlichen Verunreinigungen der Gelatine. Am Schluß der Hydrolyse nahm die Asche deutlich Kristallform an.

Entsprechend längere Zeit zu seiner vollständigen Lösung erforderte das Collagen, welches durch Erhitzen während 8 Tagen im Schrank von der schwankenden Temperatur 127° bis 132° erhalten wurde ; es waren 47 Stunden hierzu notwendig. Bei dieser hohen Temperatur verliert das Collagen, wie schon SADIKOFF [1] berichtet, die Fähigkeit der Glutinbildung infolge der « Zerstörung des leimgebenden Komplexes ». Die Darstellung des Einflusses der Salze auf die Löslichkeit dieses Collagens ist Aufgabe des III. Kapitels. Nach gleichmäßiger Erhitzung der Gelatine von GRÜBLER und COIGNET sowie des Glutins von COIGNET bei 130° nahmen wir nach 24 Stunden beim Zerstoßen der gehärteten Blätter im Mörser bei der Gelatine COIGNET und ebenso beim Glutin COIGNET einen scharfen Zwiebelgeruch wahr, der bald verschwand. Den Grund dieses anscheinenden Unterschiedes zwischen der GRÜBLER- und der COIGNET-Ware dürfte nicht in der verschiedenen Zusammensetzung, sondern in ihren verschiedenen physikalischen Eigenschaften liegen. Während die GRÜBLER-Produkte in sehr dünnen Blättern leicht trocknen und ihren Zersetzungsprodukten freien Abzug gewähren, schmelzen die dicken, schweren Blätter von COIGNET teilweise zusammen und schließen die flüchtigen Stoffe in sich ein.

[1] *Ztschr. f. physiol. Chem.*, XXXXVIII, 131 (1906).

III. KAPITEL.

Die Wirkung von Kationen auf die Eigenschaften des Glutins und seiner künstlichen Collagene.

Die Wirkung von Kationen auf die Eigenschaften des Glutins und seiner künstlichen Collagene.

Geschichtlicher Überblick.

Im II. Kapitel wurde bei der Behandlung der Opalescenz, Quellung etc. wiederholt auf die Beeinflussung der Eigenschaften des Glutins durch Elektrolyte hingewiesen. Die Aufgabe des III. Kapitels soll nun die systematische Beobachtung der Bedeutung der Salze in einigen Erscheinungen sein. Da es uns aber zu weit führen würde, alle wichtigeren Verbindungen zu berücksichtigen, so haben wir uns nur auf Kationen von Chlorverbindungen beschränkt. Das Natriumhydroxyd glaubten wir wegen seiner technischen Bedeutung nicht außer acht lassen zu dürfen.

Der Einfluß der Salze auf die Eigenschaften der Gelatine hat schon mehrere Male besondere Beachtung gefunden. Man wußte, daß Gelatine bei Gegenwart von Säuren und Alkalien im Wasser von gewöhnlicher Temperatur sich auflöse. SADIKOFF [1] hat im Anschluß an die Arbeiten von PASCHELES [2], PAULI und RONA [3],

[1] *Ztschr. f. physiol. Chem.*, XLI, 15 (1903) und XLVI, 387 (1905).

[2] *Pflüg. Arch.*, LXXI, 333 (1898).

[3] *Beitr. z. chem. Physiol. und Path.*, II, 1 (1902).

Dastre und Floresco [1] (widerlegt von Carl Th. Mörner [2]) sowie von Levites [3] festgestellt, daß die Gelatine in konzentrierten Lösungen gewisser Salze löslich sei. Lumière [4] berichtet von der Löslichkeit der Gelatine in Baryumchloridlösung. Larguier des Bancels [5] unternahm Studien über die Löslichkeit von Gelatine in verschiedenen Salzlösungen. Seine Versuche führt er in der Weise aus, daß er Scheibchen von ungefähr 1 ½ Centigramm in 2 ccm Wasser taucht, dem 20 Tropfen einer « bimolekularen » Salzlösung zugesetzt sind. Das endgültige Resultat wurde nach 260 Minuten notiert. So findet der Autor, daß zweiwertige Ionen die Lösung stärker befördern als einwertige, und daß unter sonst gleichen Bedingungen die Salze bei Gegenwart von Äthylalkohol [6] oder Aceton eine bedeutend stärkere Wirkung ausüben. Seine Versuche bezogen sich nur auf acht Kationen. Wir nahmen uns daher vor, Larguiers's Versuche auf eine größere Anzahl von Kationen auszudehnen unter genauer Bestimmung der Konzentration bei eintretender Lösung. Der Einfluß der Elektrolyte auf das Gelatinierungsvermögen der Gelatine ist, wie wir bald sehen werden, mit ihrem « Gelatinelösungsvermögen » sehr eng verbunden. Während Levites [7], Pauli und Rona [7] den Einfluß der

[1] *Arch. de physiologie*, XXVII, 701 (1895).

[2] *Ztschr. f. physiol. Chem.*, XXVIII, 507 (1899).

[3] *Kolloid-Ztschr.*, II, 161 (1907).

[4] *Bull. Soc. franc. de Photographie*, 1890, 256.

[5] *C. r. de l'Ac. des Sciences*, CXLVI, 290 (1908).

[6] Eine unserem Studium ähnliche Notiz finden wir bei Mayer und Terroine. *C. r. d. Soc. die biolog.*, I, 317 (1907) — « die Elektrolyte in kleiner Menge bewirken die Lösung des Serumalbumins in 80—85 %igen Alkohol ».

[7] loc. cit.

Salze besonders mit Rücksicht auf die Gelatinierungsgeschwindigkeit verfolgten, beschäftigte uns mehr die Frage, bei welcher Konzentration der Salzlösung die Glutinlösung überhaupt noch gelatinieren könne. Als ganz neu kommt in diesem Kapitel der Einfluß der Salze auf die Opalescenz des Glutins hinzu, ebenso wie die Bedeutung der Kationen in der Hydrolyse des künstlichen Collagens. Das Verhalten des Glutins in einer Salzlösung dem Äthylalkohol gegenüber glaubten wir am besten geeignet, um die Verschiedenheit der Salzwirkungen hervortreten zu lassen, obwohl die Dissociationsverhältnisse in diesem Falle andere sind. Die Zurückdrängung der Dissociation durch Zusatz von Nichtelektrolyten wurde bereits von ARRHENIUS [1] beobachtet. Der Einfluß der Elektrolyte auf die Quellung der Gelatine ist schon von HOFMEISTER und PAULI [2], SPIRO [3] und WOLFG. OSTWALD [4] ausführlich untersucht worden, so daß wir zu Anfang keine besondere Veranlassung hatten, Versuche mit unserem reinen Glutin in unseren Arbeitsplan aufzunehmen. In Anbetracht einiger Abweichungen der Eigenschaften unseres Produktes von dem von OSTWALD sehen wir aber jetzt, daß diese Versuche nicht überflüssig wären. Dieser Autor bedient sich der englischen « Cox »-Gelatine, welche — obwohl notorisch [5] salzhaltig — fast nur so viel Wasser aufnimmt wie unser reinstes Produkt. Während unser Glutin, wie aus der weiter unten stehenden Löslichkeitstabelle hervorgeht, sich erst in ½ nor-

[1] WIEDEMANN, STEFAN, LENZ, etc. citiert in Victor Henri's *Cours de chimie physique*, 101.

[2] *Arch. f. exper. Path.*, XXIV–XXVIII, 1888–1891.

[3] *Hofmeisters Beiträge*, V, 276 (1904).

[4] *Pflg. Arch.*, CVIII, 563 (1905).

[5] Leimanalyse, SCOTT, *Kolloid-Ztschr.*, I, 375 (1906).

maler Kali- oder Natronlauge löst, war OSTWALD's Gelatine schon in $\frac{1}{16,7}$ normaler Kalilauge vollständig zerflossen. Da auch sonst den Versuchen anderer Autoren nicht gleiche Versuche zugrunde lagen, sind die Angaben über die Absorptionsfähigkeit der Gelatine, wie wir im II. Kapitel gesehen haben, recht verschieden. Der Grund dieser Unterschiede ist außer in der Nichtbeachtung der Temperatur auch darin zu suchen, daß manche Autoren, wie OSTWALD [1], SCOTT [2], RICHET, das reine Glutin sich neutral vorstellten und die mit der möglichst neutralen Handelsgelatine erhaltenen Resultate für maßgebend ansahen.

1. Löslichkeit des Glutins in Salzlösungen.

Zum Studium des Glutinlösungsvermögens der Salzlösungen ließen wir uns einen besondern Schüttelapparat konstruieren. Er bestand in der Hauptsache aus einem metallenen Reagensglasträger, der in einem mit Filz ausgepolsterten, kleinen, vierräderigen Wagen [3] fest eingeklemmt war. Durch einen Elektromotor wurde nun der Wagen auf einem Tischchen hin- und hergetrieben, so daß der Inhalt der Reagensgläser gut geschüttelt wurde. Die Jenaer Reagensgläser von 14–16 mm Durchmesser, wurden zu etwa $^2/_3$ mit je 20 ccm Salzlösung gefüllt und ein Scheibchen von ungefähr 0,05 g Glutin hinzugegeben. Zur Verhinderung der Mikrobentätigkeit bei der Sommertemperatur von 19–21° fügte man 2–3 Tropfen Toluol hinzu. Nach 4- bis 5-stündigem ununterbrochenen Schütteln notierte

[1] *loc. cit.*, S. 576.

[2] *loc. cit.*

[3] Shaking Machine, Katalog d. *The Combridge scientific instrument company*, Physiological instrum., 1899, S. 98.

Löslichkeit des Glutins in Elektrolytlösungen

Elektrolyte	Konzentration der Lösungen												
	n/10	n/5	n/4	n/2	n	1,5 n	2 n	2,5 n	3 n	4 n	5 n	6 n	Gesättigte
$ThCl_4$	—	—	—	—	+								
NaOH	—	—	—	+									
$LaCl_3$	—		—	—	—	+							
HCl	—	—		—	—	—	+						+
$CaCl_2$	—		—	—	—		+					—	—
$BaCl_2$	—	—	—	—	—	—	+						+
LiCl	—	—	—			—	+						
$CeCl_3$	—	—	—	—		—	—	+					—
$SrCl_2$	—	—		—	—	—	—	—	+				+
$MgCl_2$	—	—	—	—	—	—			+				—
$ErCl_3$	—	—	—	—	—	—	—	—	+				—
$DiCl_3$	—	—	—	—	—		—		+				
$AlCl_3$	—	—		—	—	—	—		—	—	—	+	—
YCl_3	—			—	—		—			—			
NH_4Cl	—	—		—	—	—	—	—	—				
NaCl	—	—		—	—			—	—				—
KCl	—	—	—	—	—	—	—	—	—				—
RbCl	—		—	—	—		—	—	—				—
CsCl	—	—			—	—	—					+	—
$BeCl_2$	—	—	—		—	—	—	—	—				—

Das — Zeichen bedeutet : unlöslich, — + Zeichen : teilweise löslich, + Zeichen : löslich.

man die Resultate. Als Verschluß für die Reagensgläser dienten sorgfältig gewaschene Gummistopfen. Eine Lösung des Glutins erkannte man schon auf den ersten Blick, da das Toluol, von der Glutinlösung emulgiert, der Flüssigkeit ein milchiges Aussehen verlieh. War die Lösung milchig, das Blättchen Glutin nach 5 Stunden aber nur wenig angegriffen (was sich durch Abrunden der vorher eckigen Fragmente erkennen ließ), so bezeichneten wir das Verhalten der Substanz als «teilweise löslich». In den anderen Fällen war das Blättchen ganz verschwunden oder ganz unversehrt geblieben. In der beigefügten Tabelle haben wir die Elektrolyte ihrer Wirkung entsprechend geordnet. Wir benutzten die reinen Handelsprodukte, deren Lösungen durch Titration des Chlorgehaltes auf die bestimmte Konzentration eingestellt wurden. Die seltenen Erden stammten von MERCK, Darmstadt. Das Beryllium-chlorid enthielt 9,1 % Ammoniumchlorid.

Die Mehrzahl der Elektrolyte löst das Glutin von einer bestimmten minimalen Konzentration an. Die Menge von Glutin, die dann gelöst werden kann, ist verhältnismäßig groß. 20 ccm einer doppelt normalen Baryum- oder Calciumchloridlösung lösten allmählich, in 5 Tagen, ohne fortwährend geschüttelt zu werden, ungefähr 3 g Substanz zu einer klaren, dicken Flüssigkeit auf. Wie SADIKOFF [1] bei der Handelsgelatine, so haben auch wir eine teilweise Löslichkeit des reinen Glutins in verschiedenen Salzlösungen wohl bemerkt.

Gleich LARGUIER finden auch wir größere Lösungsfähigkeit bei zweiwertigen als bei einwertigen Kationen. Mit den Angaben SADIKOFF's stimmen unsere Erfahrungen insofern überein, als das nach seinem Verfahren

[1] *Ztschr. f. physiol. Chem.*, XLVI, 387 (1905).

hergestellte Glutin in gesättigter Kochsalzlösung unlöslich ist. Seine Resultate mit gereinigter Handelsgelatine weichen aber wegen vollständiger Löslichkeit derselben in Kochsalzlösung von unseren Beobachtungen ab.

2. Elektrolyte und Gelatinierung.

Ganz ähnlich ist die Bedeutung der Elektrolyte bei dem Gelatinierungsvorgang, ja — sie ist eine notwendige Folge ihres Lösungsvermögens für Glutin. Levites [1] sagt in Bezug auf die Gelatinierung von Kolloidlösungen, daß dieselben « um so langsamer gelatinieren, je leichter das Kolloïd sich im Lösungsmittel löst — und umgekehrt. » Für uns angewandt, würde die Regel lauten, daß das Glutin nur in solchen Lösungen gelatinieren könne, in welchen es bei gewöhnlicher Temperatur unlöslich ist. Dastre und Floresco [2] glaubten gefunden zu haben, daß einfaches Beimischen des Neutralsalzes (1–10 %) die Gelatinierung nicht verändert. Levites hat die Geschwindigkeit des Gelatinierens einer 5 %igen Gelatinelösung nach 10 % Salzzusatz in Minuten gemessen. Er beobachtete, daß Salze einbasischer Säuren den Gelatinierungsvorgang verlangsamen, während die zwei- und mehrwertigen Säuren ihn beschleunigen, mit Ausnahme einer Abweichung bei Salzen der Fettsäurereihe CnH_2nO_2. Dieser Autor kennt ein Glutin, das schon in der Konzentration von ¼ % gelatiniert, während sonst unser Glutin unter günstigster Beeinflussung durch fremde Körper erst in ½%iger Lösung fest wird. Zur Ausführung der Gelatinierungsversuche benutzten wir Jenaer Reagensgläser

[1] *loc. cit.*

[2] *Arch. de Physiol.*, XXVII, 706 (1895).

von 19 mm Durchmesser. In dieselben brachte man gewöhnlich 2 ccm einer 4%igen Glutinlösung und 2 ccm einer Salzlösung, deren Konzentration doppelt so hoch war als die der gewünschten Endlösung.

In Fällen geringer Löslichkeit des Salzes in Wasser oder, um seine Wirkung in gesättigter Lösung zu untersuchen, löste man das Glutin direkt in der Salzlösung nach vorhergehender Quellung. Die lauwarmen Lösungen wurden in fließendes Leitungswasser von 13° gestellt. Nach 12 bis 14 Stunden notierte man das endgültige Resultat. Wie im I. Kapitel gesagt wurde, betrachteten wir eine Lösung als gelatiniert, wenn sie aus dem umgekehrten Gläschen nicht mehr ausfloß. Während die Lösungen, welche vom Punkte des Verlustes des Gelatinierungsvermögens entfernt waren, schon in $\frac{1}{4}$ bis $\frac{1}{2}$ Stunde gelatinierten, brauchten die diesem Punkte näher stehenden oft 10 bis 12 Stunden. Wurden dieselben nach 12 Stunden nicht fest, so blieben sie auch nach 24 und 48 Stunden flüssig. Ein Blick auf die hierzu gehörige Tabelle überzeugt uns von der Richtigkeit der genannten allgemeinen Regel.

In Fällen, in denen die Glutinlösung nicht gelatiniert, das Glutin aber (nach der Löslichkeitstabelle) *teilweise* löslich ist, glauben wir eine langsame chemische Einwirkung annehmen zu dürfen, welcher das ungelöste Glutin nur schwach, das gelöste aber stärker unterliegt. In einigen Ausnahmefällen war der Versuch der Gelatinierung unmöglich, da sich das Glutin in der betreffenden Salzlösung trotz des Erhitzens bis zum Aufkochen nicht löste. Der Zusammenstellung nach beeinflussen alle der Glutinlösung zugesetzten Elektrolyte die Gelatinierung ungünstig, insofern sie in gewisser Menge zugegen die Gelatinierungsgeschwindigkeit verzögern oder bei einer bestimmten Konzentration ihr

Zustandekommen ganz unmöglich machen. Daß die Elektrolyte nicht immer die gleiche Wirkung bei der Gelatinierung ausüben, wurde bereits im ersten Kapitel bei der Besprechung des Zusammenhanges des Aschengehaltes mit der Gelatinierungsfähigkeit der Gelatinen gezeigt. Zur Sichtbarmachung der Begünstigung des Gelatinierens durch Elektrolyte stellten wir eine ½%ige Glutinlösung her, welche sonst nicht gelatiniert. Proben von 5 ccm dieser Lösung in Jenaer Reagensgläsern setzten wir einige Centigramme des Elektrolyten in gelinder Wärme hinzu und stellten sie mit Proben ohne Elektrolyten zur Abkühlung beiseite. Es wurden willkürlich gewählte kleine Mengen genommen, da es sich nur darum handelte, ihren Einfluß qualitativ festzustellen. Auf die Löslichkeit der Salze haben wir keine Rücksicht genommen. Nasse [1] berichtet, daß Glutinlösung die Löslichkeit gewisser in Wasser schwerlöslicher Salze begünstigt. Bei der Temperatur von 0°–3° fanden wir nach 5–24 Stunden folgende in der Tabelle zusammengestellten Resultate.

Durch sein besonderes Verhalten lenkte das Thorium unsere Aufmerksamkeit auf sich. Wir haben die Menge seiner ½normalen Lösung bis auf 15 Tropfen (1 ccm) vergrößert und andererseits durch Abmessen entsprechender Verdünnungen der ½normalen Lösung bis auf $^1/_{100}$ Tropfen vermindert, ohne jemals eine Gelatinierung der ½%igen Glutinlösung (5 ccm) beobachten zu können. Die Gegenwart von $^1/_{20}$ Tropfen verhinderte noch vollkommen die Opalescenz, erst $^1/_{50}$ Tropfen ließ dieselbe erscheinen. Um stets ½% Glutin in Lösung zu haben, wurde natürlich das Volumen der zugesetzten Salzlösung von der zur Lösung des Glutins nötigen Wassermenge abgezogen.

[1] *Jahresb. f. d. Fortschr. d. Thierchemie*, XIX, S. 29 (1889).

Gelatinierung des Glutins bei Gegenwart von Elektrolyten (in 2 %iger Lösung)

Elektrolyte	Konzentration der Lösung												
	n/10	n/5	n/4	n/2	n/1	1,5 n	2 n	2,5 n	3 n	4 n	5 n	6 n	Gesättigt
$ThCl_4$	+	—	—		—								
$LaCl_3$	+	+	+	+	+	—	—						—
HCl	+	+	+	+	+	+	—						—
$CaCl_2$	+	+	+	+	+	+	—						*
$BaCl_2$	+	+	+	+	+	+	—						—
LiCl	+	+	+	+	+	+	—						—
$CeCl_3$	+	+	+	+	+	—	—						—
$SrCl_2$	+	+	+	+	+	+	—						—
$DiCl_3$	+	+	+	+	+	+	—						—
$MgCl_2$	+	+	+	+	+	+	+	+	—				—
$ErCl_3$	+	+	+	+	+	+	+	+	—				—
$AlCl_3$	+	+	+	+	+	+	+	+	—				*
YCl_3	+	+	+	+	+	+	+			—			—
AzH_4Cl	+	+	+	+	+	+	+	+					—
NaCl	+	+	+	+	+	—	+	+					—
KCl	+	+	+	+	+	+	+	+					—
RbCl	+	+	+	+	+	+	+	+					*
CsCl	+	+	+	+	+	—							—
$BeCl_2$	+	+	+	+					*				

Das + Zeichen bedeutet : gelatiniert, — Zeichen : gelatiniert nicht ; der Stern (*) gibt an, daß das Glutin in der betreffenden Salzlösung durch Erwärmen nicht gelöst werden konnte.

5 ccm. Lösung mit $^1/_2$ % Glutin und :	Menge des Elektrolyten	Zustand der Lösung
ohne Zusatz		dünnflüssig, opalescierend
» »		» »
» »		» »
$Ca(H_2PO_4)_2$	0,05 g	gelatiniert, fest
$CaHPO_4$	0,05 g	» »
$Ca_3(PO_4)_2$	0,05 g	brüchige Gallerte
$CaSO_4$	0,05 g	» »
Na_2SO_4	0,05 g	gelatiniert, fest, klar
Na_3PO_4	0,05 g	» »
Na_2SiO_3	0,05 g	» »
CaO	0,05 g	brüchige Gallerte
$Ca_3(BoO_3)_2$	0,05 g	gelatiniert, fest
KJ	0,05 g	gelatiniert, fest, klar
NaOH	3 Tropf. v. $\frac{n}{10}$ Lösung	» » »
NaCl	0,05 g	» » »
$BaCl_2$	0,05 g	» » »
$ThCl_4$	3 Tpf. v. $\frac{n}{2}$	dünnflüssig klar
$CaCl_2$	2 Trpf. v. $\frac{n}{1}$	gelatiniert, fest, opalescierend
LiCl	2 Trpf. v. 3 n	» » »
$CeCl_3$	2 Trpf. v. $\frac{n}{1}$	» » klar
$SrCl_2$	1 Trpf. v. 2 n	» » opalescierend
HCl	1 Trpf. v. 1 n	» » klar
$MgCl_2$	2 Trpf. v. $\frac{n}{1}$	» » opalescierend
$AlCl_3$	1 Trpf. v. 5 n	» » klar
NH_4Cl	3 Trpf. v. $\frac{n}{1}$	» » opalescierend
KCl	3 Trpf. v. $\frac{n}{2}$	» » »
RbCl	2 Trpf. v. $\frac{n}{1}$	» » »
YCl_3	2 Trpf. v. $\frac{n}{1}$	» » klar
ohne Zusatz aber in gewöhnlich. Glase		brüchige Gallerte, opalescierend
» »		» » »
Gelatine-Asche	0,001 g	gelatiniert, fest, klar
» »	0,04 g	» » klar

3. Elektrolyte und Opalescenz.

Je mehr sich eine Glutinlösung der Konzentration nähert, bei der eine Entmischung des Kolloides möglich ist, um so stärker ist ihre Opalescenz. Jede Wirkung, die dem Entmischungsvorgang mehr oder weniger entgegengerichtet ist, muß sich durch Veränderung der die Entmischung begleitenden Erscheinung — der Opalescenz — in entsprechender Weise kundgeben. Indessen ist die Opalescenz der Wirkung der Salze gegenüber bedeutend empfindlicher als die Löslichkeit und Gelatinierung des Glutins. Auch scheint man bei der Opalescenz mit anderen Faktoren zu tun zu haben als bei den beiden letztgenannten Eigenschaften des Glutins.

Versuche mit Alkalien, Säuren und Salzen beweisen, daß bei einer gewissen Konzentration das reine Glutin die stärkste Opalescenz aufweist, die durch alle hinzugesetzten Elektrolyte verhindert wird. Je 5 ccm stark opalescierender Glutinlösung wurden nacheinander mit 1·5 Tropfen $^1/_{100}$ normaler Salzsäure versetzt, wovon 13 Tropfen 1 ccm ausmachten. Schon bei dem ersten Tropfen ließ sich nach Abkühlung der Lösung eine schwache Klärung bemerken. 2 Tropfen wirkten stärker, bis bei Zusatz von 5 Tropfen die Opalescenz ganz verschwunden war. Das Volumen der Tropfen der Säurelösung wurde stets von der gesamten Wassermenge abgezogen, so daß man immer 5 ccm einer genau 1%igen Glutinlösung hatte. Dieselbe Wirkung wurde durch Natriumhydroxyd ausgeübt; die Opalescenz wurde nach dem ersten Tropfen der $^1/_{10}$ normalen Lösung geringer, bis 4 Tropfen sie ganz aufhoben. 14 Tropfen dieser Lösung entsprachen 1 ccm. Im Vergleich mit der Wirkung des ersten Tropfens der Säurelösung

war die Änderung der Opalescenz durch einen Tropfen der Lauge merklich größer. Die Opalescenz der Säure- wie der Alkaliserie erwies sich ziemlich widerstandsfähig gegen Temperatureinfluß. Nach 48stündiger Aufbewahrung (bei 11°) der Säure- und Alkaliserie in zugeschmolzenen Gläsern, deren ursprüngliche Opalescenz zum Teil geändert war, wurden dieselben 20 Minuten im Wasserbade von 60° und dann 1 ½ Stunde bei 97° erhitzt. Die nach dem Abkühlen besichtigte Opalescenz der Serien hatte sich nicht merklich geändert, mit Ausnahme der beiden Proben ohne jeden Zusatz, deren Opalescenz deutlich klarer geworden war. Der Einfluß von Säuren und Alkalien auf die Opalescenz stärker konzentrierter Lösungen ist ähnlich, doch mit dem Unterschiede, daß die Glutinlösung, umsomehr Säure oder Alkali erfordert, um ganz klar zu werden, je konzentrierter sie ist. Eine 4%ige Lösung brauchte genau viermal soviel Säure oder Alkali als eine 1%ige.

Der Einfluß der Salze auf die Opalescenz ist sehr verschieden. Nach zahlreichen Einzelversuchen haben wir es für zweckmäßig gehalten, die Wirkung der Salze in folgender Weise zu veranschaulichen. Wir suchten die Salze in solchen Lösungen anzuwenden, die eine einigermaßen vergleichbare Wirkung besitzen. Die stark wirkenden Elektrolyten können in höchstens $^1/_{50}$ normaler Lösung gebraucht werden, da sonst die kleinste Menge davon, ein Tropfen, die Opalescenz ganz zum Verschwinden bringt und die voneinander verschiedene Wirkung der Elektrolyte nicht zu beobachten wäre. Für andere wieder mußte eine normale Lösung gewählt werden, da sonst die Veränderung der Opalescenz zu gering und deshalb wiederum unsichtbar wäre. Wir haben daher eine Reihe von gut gewaschenen Jenaer Gläsern mit je 5 ccm 1%iger Glutinlösung beschickt und in fließen-

dem Leitungswasser von 13° abgekühlt. Die ganze Serie zeigte genau dieselbe Opalescenz. Nun setzten wir jedem Gläschen einen Tropfen [1] von der zu prüfenden Elektrolytlösung hinzu, erwärmten sehr gelinde, um den Inhalt durchschütteln zu können, und stellten die ganze Serie auf einige Stunden zum Abkühlen in fließendes Wasser. Die durch die Zusätze herbeigeführten Veränderungen der Opalescenzen lassen sich am deutlichsten der nachstehenden Tabelle entnehmen:

5 ccm. 1% Glutinlösung versetzt mit:	1 Tropfen der Konzentration	Veränderung der ursprünglich starken Opalescenz
NaOH	$\frac{n}{50}$	vollkommen klar
$ThCl_4$	$\frac{n}{50}$	bläulich
$AlCl_3$	$\frac{n}{50}$	»
HCl	$\frac{n}{50}$	blau — wenig opalescierend
$MgCl_2$	$\frac{n}{1}$	blau, opalescierend weniger als die folgende Lösung
$SrCl_2$	$\frac{n}{1}$	» » » »
$CaCl_2$	$\frac{n}{1}$	» » » »
$BaCl_2$	$\frac{n}{1}$	» » » »
LiCl	$\frac{n}{1}$	» » » »
NaCl	$\frac{n}{1}$	» » » »
KCl	$\frac{n}{1}$	blau, von der Reihe am stärksten opal.
H_2O (Zeuge)	1 Trpf.	stark opalescierend

[1] 13 Tropfen = 1 ccm.

4. Wirkung der Elektrolyte bei Gegenwart von Alkohol.

Wie Seite 66 erwähnt, wird die Fähigkeit der Elektrolyte, das Glutin zu lösen, durch die Gegenwart von Alkohol bedeutend erhöht. Daraus folgt auch die Fähigkeit der Salze, Glutin in Lösung gegen die fällende Wirkung des Alkohols zu schützen, indem sie die Fällungsgrenze erhöhen. Je stärker der Elektrolyt das Glutin beeinflußt, desto schwieriger ist es, die Fällung desselben mittels Alkohol zu erreichen. Bei sehr intensiver Einwirkung wird das Glutin durch Alkohol überhaupt nicht gefällt. Diese schützende Wirkung der Elektrolyte haben wir nun quantitativ gemessen. Da schon Spuren von Elektrolyten von Einfluß sind, waren zur Gewinnung konstanter Resultate die größten Vorsichtsmaßregeln geboten. Wir benutzten Jenaer Reagensgläser von 19 mm Durchmesser, welche gut mit Wasserdampf gewaschen waren. In Serien dieser Gläser brachten wir je 4 ccm der 1%igen Lösung von Glutin in der Elektrolytlösung. Diese bestimmte Lösung wurde so hergestellt, daß man 2 ccm 2%iger wässeriger Glutinlösung und 2 ccm Elektrolytlösung kurz vor dem Versuch zusammenmischte. Die Vorversuche wurden in der Weise ausgeführt, daß den verschiedenen Mischungen immer 0,5 ccm 99,8%iger Äthyl-Alkohol bei gelinder Temperatur (35°–40°) zugesetzt wurde. Nach zwei- bis dreistündigem Abkühlen der gut durchgeschüttelten Flüssigkeit in fließendem Leitungswasser von 13° beobachtete man die etwaigen Veränderungen. Nach Zusatz einer gewissen Menge Alkohol wurde das Glutin ausgeschieden. Schon bevor der Alkohol in der zur Fällung hinreichenden Menge in der Mischung

zugegen war, sah man diese Grenze an der der Fällung vorhergehenden Opalescenz sich nähern. [1] Nach Zugabe gleicher Mengen Alkohol konnte man nach der Stärke der Opalescenz die verschieden starken Wirkungen der Elektrolyte beurteilen ; denn die stärker opalescierenden Flüssigkeiten waren der Fällungsgrenze schon näher, ihre Elektrolyte daher in ihrer Wirkung schwächer, während die weniger trüben Lösungen noch viel Alkohol nötig hatten, um gefällt zu werden, da sie von ihren Elektrolyten stärker beeinflußt waren.

Nach den Vorversuchen, bei denen es sich darum handelte, die Elektrolyte ihrer Wirkung nach einigermaßen zu gruppieren, schritten wir zur möglichst genauen Bestimmung der zur beginnenden Fällung notwendigen Alkoholmenge, indem wir in der Nähe des ungefähr bekannten Fällungspunktes den Alkohol nur in der Menge von 0,1–0,2 ccm hinzusetzten. Auf diese Weise gelang es uns, viele fast gleich wirkende Elektrolyte von einander zu unterscheiden. Die Bestimmung des Fällungspunktes war nicht immer leicht. Am deutlichsten war der Punkt bei Alkalisalzen zu beobachten ; das Glutin wurde in großen Flocken ausgeschieden. Bei den zweiwertigen Kationen sah man bei einer gewissen Menge Alkohol die Ausscheidung in Form von Nebel beginnen, der mit vermehrtem Alkoholzusatz immer dichter wurde. Das Erscheinen des Nebels wurde in diesem Falle als Fällungsgrenze angesehen. Da diese Erscheinung fast nur in stark konzentrierten Salz-

[1] Analogie mit der Beobachtung von Mayer und Schaefer ; C. r. d. Soc. biolog. I, 681 (1908). — « Les granules colloïdaux ont avec leur solvant une forte liaison. Toute action diminuant la liaison (alcool, acétone, etc.), fait apparaître dans les gels des granulations ultramicroscopiques d'abord très fines, puis de plus en plus grosses. »

lösungen beobachtet wurde, war es in solchen Fällen notwendig, dieselbe Probe ohne Glutin auszuführen, um sich zu überzeugen, ob nicht etwa das Salz durch Alkohol gefällt werde. Eine andere Art der Ausscheidung des Glutins ist die in Form feinster Verteilung, welche der Flüssigkeit ein ganz weißes, milchiges Aussehen verleiht. Der milchige Zustand bleibt meist auch nach 14 Stunden Abkühlung bestehen, selten entstehen Flocken. Man erhält ihn bei den sehr stark wirkenden Elektrolyten. Zwischen den Lösungen, die Ausscheidung erkennen lassen, und solchen, die ganz klar bleiben, gibt es einige, welche an der Berührungsstelle mit Alkohol weiße, schwache Ringe bilden, ohne sich durch Alkohol fällen zu lassen. Solche Lösungen werden nach Zumischen von Alkohol blau. Die Reinheit der blauen Farbe ist von gewissen, nicht näher untersuchten Umständen abhängig. Die Glutinlösung mit $CeCl_3$ in $^1/_8$ normaler Konzentration zeigte beispielsweise nach Zusatz von 10–12 ccm Alkohol eine rein himmelblaue Farbe (Tyndall-Phänomen). Eine vierte Art der Glutinfällung ist diejenige in der Wärme. Man trifft dieselbe manchmal bei stark konzentrierter Salzlösung an. Wurde nach Alkoholzusatz im allgemeinen die Mischung trübe, so wurde sie gewöhnlich zwecks Wiederauflösung des Niederschlages, der sich an der Berührungsstelle mit Alkohol gebildet haben konnte, gelinde erwärmt. Bei dieser Gelegenheit wurden in einigen Salzlösungen (z. B. von $AlCl_3$ $\frac{2}{n}$) augenblicklich große Flocken erzeugt, welche an der Glaswand hängen blieben.

Wir haben uns bemüht, unsere Beobachtungen in den Tabellen möglichst übersichtlich wiederzugeben, unter Angaben der infolge des Alkoholzusatzes eintretenden Veränderungen. Wie schon vorher gesagt, beziehen sich alle Werte auf 4 ccm 1%ige Glutinlösung,

4 ccm Lösung mit 1% Glutin und		Alkoholzusatz in ccm.	Veränderung
ohne Elektrolyt		0,7	Ausscheidung in Flocken
KCl	$\frac{n}{10}$	3,2	» »
NaCl	$\frac{n}{10}$	3,2	» »
NH_4Cl	$\frac{n}{10}$	3,3	» »
CsCl	$\frac{n}{10}$	3,5	» »
RbCl	$\frac{n}{10}$	3,5	» »
LiCl	$\frac{n}{10}$	3,6	» »
$MgCl_2$	$\frac{n}{10}$	4,7	» »
$SrCl_2$	$\frac{n}{10}$	7,1	» »
$CaCl_2$	$\frac{n}{10}$	7,3	» »
$BaCl_2$	$\frac{n}{10}$	10,5	» »
$BeCl_2$	$\frac{n}{10}$	20	Kein Niederschlag ; Ring mit überschichtetem Alkohol.
$AlCl_3$	$\frac{n}{10}$	20	Bleibt klar ; kein Ring.
YCl_3	$\frac{n}{10}$	20	Kein Niederschlag ; Ring.
$LaCl_3$	$\frac{n}{10}$	20	» » »
$DiCl_3$	$\frac{n}{10}$	20	» » »
$ErCl_3$	$\frac{n}{10}$	20	» » »
$CeCl_3$	$\frac{n}{10}$	20	» » »
$ThCl_4$	$\frac{n}{10}$	20	Klar; kein Ring.
4 ccm ½% Glutinlös. (Coignet od. Grübler)		0,8	Ausscheidung in Flocken.
4 ccm ½% Gelatinel.			
Gel. Grübler		1,0	» »
Gel. Coignet		2,3	» »

4 ccm 1 % Glutinlösung mit:		Alkoholzusatz in ccm	Veränderung
KCl	2 n	7-8	Nebelige Ausscheidung
»	n	6	» »
»	$\frac{n}{2}$	5,3	» »
»	$\frac{n}{4}$	4.5	Ausscheidung in Flocken
»	$\frac{n}{8}$	3.5	» »
»	$\frac{n}{16}$	2,2	» »
»	$\frac{n}{32}$	1,3	» »
LiCl	2 n	7-10	Mit 7 ccm Nebeln, die sich mit jedem ccm vermehren
»	n	6,8	Flockige Ausscheidung
»	$\frac{n}{2}$	5,6	» »
»	$\frac{n}{4}$	5	» »
»	$\frac{n}{8}$	4	» »
»	$\frac{n}{16}$	2,2	» »
»	$\frac{n}{32}$	1,3	» »
$MgCl_2$	2 n	7,5	» »
»	n	6,8	» »
»	$\frac{n}{2}$	6,3	» »
»	$\frac{n}{4}$	5,7	» »
»	$\frac{n}{8}$	5	» »
»	$\frac{n}{16}$	4,5	» »
»	$\frac{n}{32}$	3,5	» »
$SrCl_2$	2 n	7,5	Nebelige »
»	n	6,5	Flockige »
»	$\frac{n}{2}$	6,5	» »
»	$\frac{n}{4}$	7	» »

4 ccm 1 % Glutinlösung mit:		Alkoholzusatz in ccm	Veränderung
$SrCl_2$	$\frac{n}{8}$	7	Flockige Ausscheidung
»	$\frac{n}{16}$	7,5	» »
»	$\frac{n}{32}$	8	» »
»	$\frac{n}{64}$	6,4	Milchige »
»	$\frac{n}{128}$	4,1	» »
»	$\frac{n}{256}$	1	Flockige »
$CaCl_2$	2 n	7	Nebelige Ausscheidung
»	n	7	» »
»	$\frac{n}{2}$	7	» »
»	$\frac{n}{4}$	7	Flockige »
»	$\frac{n}{8}$	7	» »
»	$\frac{n}{16}$	8	» »
»	$\frac{n}{32}$	6	Milchige »
»	$\frac{n}{64}$	6	» »
»	$\frac{n}{128}$	6	» »
»	$\frac{n}{256}$	1,2	Flockige »
$BaCl_2$	2 n		Alkoholische Salzfällung
»	n	9	Flocken, Salzfällung
»	$\frac{n}{2}$	8	Große Flocken
»	$\frac{n}{4}$	8-9 $\frac{1}{2}$	Mit 8 Nebeln, mit 9 $\frac{1}{2}$ Flocken
»	$\frac{n}{8}$	10	Flocken
»	$\frac{n}{16}$	11	Milchige Ausscheidung
»	$\frac{n}{32}$	13	» »
»	$\frac{n}{64}$	11,5	» »

4 ccm 1 % Glutinlösung mit:		Alkoholzusatz in ccm	Veränderung
$BACl_2$	$\frac{n}{128}$	7,9	Milchige Ausscheidung
»	$\frac{n}{256}$	1,9	» »
$AlCl_3$	2 n	16	Ausscheidung in der Wärme, große Flocken
»	n	20	Blaue Lösung, Ring
»	$\frac{n}{2}$	20	» » opal., Ring
»	$\frac{n}{4}$	20	Klar, kein Ring
»	$\frac{n}{32}$	20	» »
»	$\frac{n}{256}$	20	» »
»	$\frac{n}{1024}$	3,3	Milchige Ausscheidung
»	$\frac{n}{2048}$	1,1	Flockige »
»	$\frac{n}{4096}$	1,0	» »
$BeCl_2$	n	8-8,5	Bei 8 ccm Nebel, bei 8,5 große Flocken
»	$\frac{n}{4}$	15	Mit 10 blau, mit 11 Nebel, mit 15 Milch
»	$\frac{n}{256}$	20	Klar, kein Ring
»	$\frac{n}{2048}$	1,1	Milchige Ausscheidung
»	$\frac{n}{4096}$	1,0	Flockige »
YCl_3	n	7	
»	$\frac{n}{4}$	11,5	
»	$\frac{n}{16}$	20	Bläuliche Lösung, schwacher Ring
»	$\frac{n}{64}$	20	Klar, kein Ring
»	$\frac{n}{512}$	20	» »
»	$\frac{n}{2048}$	20	Bläulich, schwacher Ring
»	$\frac{n}{4096}$	2	Milchig

4 ccm 1% Glutinlösung mit:		Alkoholzusatz in ccm	Veränderung
$CeCl_3$	2 n	7	Nebelige Ausscheidung
»	n	7-8	Mit 7 Nebel, mit 8 Flocken
»	$\frac{n}{2}$	8	Flocken
»	$\frac{n}{4}$	12	»
»	$\frac{n}{8}$	20	Bei 1–4 Ringe, mit 10–12 rein blau, mit 20 blau opalescierend
»	$\frac{n}{16}$	20	Klar, kein Ring
»	$\frac{n}{32}$	20	» »
»	$\frac{n}{64}$	20	» »
»	$\frac{n}{128}$	20	» »
»	$\frac{n}{256}$	20	» »
»	$\frac{n}{512}$	20	» »
»	$\frac{n}{1024}$	20	» »
»	$\frac{n}{2048}$	2,8	Flocken
»	$\frac{n}{4096}$	1,3	»
$ThCl_4$	n	12	Flocken beim Erwärmen
»	$\frac{n}{4}$	20	Blau, schwacher Ring
»	$\frac{n}{256}$	20	Klar, kein Ring
»	$\frac{n}{2048}$	20	Bläulich, schwacher Ring
»	$\frac{n}{4096}$	1,6	Flocken

4 ccm 1% Glutinlösung mit:		Alkoholzusatz in ccm	Veränderung
HCl	n	8-9	Mit 8 Nebel, mit 9 Flocken
»	$\frac{n}{4}$	13	Flocken
»	$\frac{n}{256}$	20	Klar, kein Ring
»	$\frac{n}{2048}$	3	Milchig
»	$\frac{n}{4096}$	1,3	»
NaOH	n	5-7	Mit 5 trübe, mit 7 noch trüber
»	$\frac{n}{4}$	8,5-12,5	Mit 8,5 trübe, mit 12,5 Nebel
»	$\frac{n}{256}$	20	Klar, schwacher blauer Ring
»	$\frac{n}{2048}$	1,7	Milchig
»	$\frac{n}{4096}$	0,9	Flockig
KCl, NaCl, je	$\frac{n}{20}$	3,5	»
$MgCl_2$, LiCl, je	$\frac{n}{20}$	4	»
$BaCl_2$, KCl, je	$\frac{n}{20}$	7-7,5	Mit 7 stark trübe, mit 7,5 große Flocken
$CaCl_2$, KCl, je	$\frac{n}{20}$	6	Flockig
$CeCl_3$, KCl, je	$\frac{n}{20}$	20	Mit 10 klar, mit 16 grünbläulich opalescierend, mit 20 milchig, aber durchsichtig
Versuche in gewöhnlichen Gläsern			
HCl	$\frac{n}{256}$	20	Klar, kein Ring
»	$\frac{n}{2048}$	1,4	Milchig
NaOH	$\frac{n}{256}$	20	Klar, schwacher blauer Ring
»	$\frac{n}{2048}$	4,1	Milchige Ausscheidung

welche die jedesmal angegebene Menge des Elektrolyten enthält.

Die zum Versuch verwendete maximale Alkoholmenge ist in Kubikcentimetern ausgedrückt.

Nachdem wir zunächst die Elektrolyte bei gleicher Konzentration untereinander verglichen hatten, untersuchten wir insbesondere die Wirkung verschiedener Konzentrationen. Zwecks Beobachtung der Wirkung, welche aus der Vereinigung zweier Salze sich ergeben könnte, haben wir einige Versuche mit Salzmischungen angestellt. Zum Schluß haben wir uns gewöhnlicher Gläser bedient, um den Einfluß des Alkalis des Glases hervortreten zu lassen.

Es ist eine bekannte Tatsache, daß die Glutinlösung bei niedriger Temperatur weniger Alkohol zur Ausscheidung des Glutins erfordert als bei höherer. Während heiße Glutinlösungen wenigstens 70 % Alkohol enthalten müssen, wird das Glutin aus einer ½%igen Lösung bei 13° schon durch 16,5 Gewichtsprozente Alkohol ausgefällt. Bei 0° genügten bereits 9 % Alkohol. Die Ausscheidung ist nicht vollständig. Das Filtrat von dem bei 0° gefällten Glutin veränderte sich zwar nicht bei der Abkühlung auf −20°, schied aber nach Vermehrung des Alkohols auf 50 % und nach Abkühlung auf −15° wieder Flocken aus. Das Filtrat davon enthielt noch etwas Glutin in Lösung; denn in der Platinschale eingedampft, hinterließ es ein wenig Substanz. Die Gelatinen brauchen wegen ihres Salzgehaltes im allgemeinen mehr Alkohol zur Fällung.

5. Bedeutung der Elektrolyte in der Hydrolyse des Collagens.

Die Beteiligung der Elektrolyte an der Lösung des Glutins in Wasser und verdünntem Alkohol hat uns Veranlassung gegeben, ihre Bedeutung für die Hydrolyse des schwer löslichen Collagens von 130° zu untersuchen. Zu diesem Zwecke wurden je 10 ccm Elektrolytlösung mit 0,2 g Substanz in Jenaer Gläschen eingeschmolzen. Die so beschickten Röhrchen legten wir in einen Trockenschrank von 100°. Die Fortschreitung der Hydrolyse wurde verfolgt, indem man zu Anfang jede Stunde, gegen Ende der Auflösung aber jede halbe Stunde nachschaute und den Inhalt der Röhrchen umschüttelte. Wir haben zum Vergleich $^1/_5$ normale Konzentration gewählt. Für Baryum, das sich durch eine besondere Wirkung auszeichnete, hielten wir es für interessant, noch einen Versuch mit $^1/_2$normaler Lösung anzustellen. Der Sicherheit halber haben wir zwei Proben ohne Elektrolytzusatz hydrolysiert. Folgende Tabelle hat den Zweck, die Wirkung der Elektrolyte in der Hydrolyse zu veranschaulichen. Sie gibt die Stunden an, die zur vollständigen Auflösung des Collagens unter Einwirkung der betreffenden Elektrolytlösung nötig waren.

Wir haben auch Lösungsversuche von Collagen bei 40° in salzsaurem Wasser mit und ohne Salzzusatz angestellt, doch soll die Beschreibung dieser Art der Lösung erst im IV. Kapitel gegeben werden, und zwar als Parallelversuch zur Pepsinwirkung.

Collagen von 130° 0,2 g mit 10 ccm :	Lösungszeit in Stunden
HCl $\frac{n}{5}$	2.5
$ThCl_4$ $\frac{n}{5}$	10
$AlCl_3$ $\frac{n}{5}$	12
$BeCl_2$ $\frac{n}{5}$	31
YCl_3 $\frac{n}{5}$	31
$ErCl_3$ $\frac{n}{5}$	31
NH_4Cl $\frac{n}{5}$	32
$CeCl_3$ $\frac{n}{5}$	36.5
RbCl $\frac{n}{5}$	36.5
KCl $\frac{n}{5}$	36.5
$LaCl_3$ $\frac{n}{5}$	36,5
NaCl $\frac{n}{5}$	39
$SrCl_2$ $\frac{n}{5}$	39
$MgCl_2$ $\frac{n}{5}$	39
$DiCl_3$ $\frac{n}{5}$	39
$BaCl_2$ $\frac{n}{2}$	41
CsCl $\frac{n}{5}$	43,5
LiCl $\frac{n}{5}$	47
$CaCl_2$ $\frac{n}{5}$	47
Wasser	47 47
$BaCl_2$ $\frac{n}{5}$	50

6. Übersicht über die Wirkungen der Elektrolyte.

Bei der Vergleichung der Wirkungen der Elektrolyte in ihrem Verhalten gegen Glutin sei es mit Rücksicht auf sein Lösungsvermögen oder seine Gelatinierung, Opalescenz oder Alkoholfällung, finden wir einen Parallelismus, wenn wir den rein physikalischen Vorgang berücksichtigen. Wir finden dieselben schwach oder gar nicht wirkenden Elektrolyte bei dem Gelatinierungsvorgange wie bei der Glutinlösung. Hier wie dort sehen wir, daß die einwertigen Kationen den schwächsten, die zwei- und dreiwertigen einen ziemlich starken und daß das vierwertige Thorium den stärksten Einfluß ausüben. Im Gelatinierungsvorgang spielen die Salze eine merkwürdige Rolle. In ganz geringer Menge beigemischt, begünstigen sie die Gelatinierung, während sie in größerer Menge sie gänzlich verhindern. In der Wirkung auf die Opalescenz können wir zwar einen gewissen Parallelismus mit der Beeinflussung der besprochenen Eigenschaften des Glutins nicht in Abrede stellen ; aber es macht sich doch eine gewisse Abweichung bemerkbar. Die Opalescenz ist im Gegensatz zu den beiden erwähnten Eigenschaften sehr empfindlich gegen die Produkte der hydrolytischen Spaltung der Elektrolyte. Am deutlichsten ist die Abhängigkeit der Wirkung der Elektrolyte von dem Grade ihrer Dissociation bei den Fällungsversuchen mit Alkohol wahrzunehmen.

Etwas anders beeinflußten die Elektrolyte den chemischen Prozeß, die Hydrolyse des Collagens von 130°. Hier sehen wir die gegen Lackmuspapier sauren

Lösungen (von HCl, $ThCl_4$, $AlCl_3$, $BeCl_2$, YCl_3, $ErCl_3$) durch ihre Wirkung hervortreten. Es ist daher mehr die Natur der Reaktion (neutral oder sauer) als die Natur der Kationen auf die Hydrolyse von besonderem Einfluß.

IV. KAPITEL.

Die Bedeutung der Salze in der peptischen Verdauung mit besonderer Berücksichtigung der Kationen.

Die Bedeutung der Elektrolyte in der peptischen Verdauung.

Geschichtlicher Überblick.

Seit einiger Zeit hat man erkannt, daß einige anorganische Körper eine aktive Rolle in der Tätigkeit gewisser Enzyme spielen. [1] Man weiß, daß für eine gute Wirkung der Oxydase die Gegenwart von Mangansalz notwendig ist, ebenso wie die von Kochsalz für die Maltasewirkung. [2] Fibrin- und Labferment sind ohne Calciumsalze unwirksam. Robertson [3] berichtet von einer günstigen Beeinflussung der tryptischen Hydrolyse des Kaseïns durch Salze. Delezenne [4] hat die Begünstigung der Trypsinbildung aus Trypsinogen durch die Gegenwart von Calciumsalzen nachgewiesen. Die Frage, welche Rolle wohl die Salze in der peptischen Verdauung spielen, beschäftigte schon einige Forscher. Wollberg [5] beobachtete den Gang des Verdauungsprozesses in Gegenwart von einigen Salzen und Alkaloïden. Dieser Autor untersucht die peptische Verdauung von Fibrin, um dessen Aschengehalt er sich nicht kümmerte, und bedient sich gewöhnlicher Gläser ;

[1] Hans Euler, *Allgem. Chemie der Enzyme* (1910), S. 75.

[2] Bierry, Giaja und V. Henri, *C. r. d. Soc. Biolog.*, I, 479 (1906).

[3] *Kolloid.-Ztschr.*, II, 90 (1907).

[4] *C. r. d. Soc. Biolog.*, I, 1070 (1906).

[5] *Pflüg. Arch.*, XXII, 297 (1880).

Umstände, auf die wir unser Augenmerk ganz besonders lenken mußten, nachdem wir die Wirkung geringer Salzmengen festgestellt hatten. Unsere Resultate stimmen mit denen von WOLLBERG nicht überein. Obwohl der Autor im allgemeinen eine Hemmung des Verdauungsprozesses feststellt, gibt er Fälle an, in denen er bei gewissen Mengen des Salzes eine kleine Beschleunigung beobachtet. Wir haben seine Versuche mit gekochtem und rohem Fibrin wiederholt, ohne jemals die geringste Begünstigung der Fibrin-Verdauung durch Salze wahrzunehmen. Ähnliche Resultate wie WOLLBERG erhielt LEVITES [1], welcher außerdem bemerkte, daß die Salze auf die Verdauung von krystallisiertem Hühnereiweiß nicht die gleiche Wirkung ausüben. Die Ergebnisse der Arbeiten von DASTRE, CHITTENDEN, SCHÜTZ, KRÜGER u. a. entnehmen wir OPPENHEIMERS Werke. [2] Wir sehen, daß alle Forscher Hemmung der Verdauung beobachteten, mit Ausnahme von CHITTENDEN, der sagt, daß Chloride, Bromide, Arsensäure in kleinen Dosen die Verdauung befördern und in größeren hemmen. Aus dem genannten Buche ersahen wir erst nach Abschluß unserer Versuche, daß unsere Resultate in Bezug auf die hemmende Wirkung der Chloride unter gewissen Bedingungen mit denen von KRÜGER [3] übereinstimmen.

Nachdem es uns gelungen war, ein aschenfreies Collagen herzustellen, glaubten wir uns in den günstigsten Bedingungen zu befinden, um die Wirkung der Salze [4]

[1] *Ztschr. f. physiol. Chem.*, XLVIII, 189 (1906).

[2] OPPENHEIMER, *Die Fermente*, Leipzig 1909, S. 277.

[3] *loc. cit.*

[4] Wir haben besonders die Alkalien, die alkalischen Erden und die Erden berücksichtigt, nicht aber die Salze der Schwermetalle.

untersuchen zu können, zumal da man bisher wegen, der Schwierigkeit, salzfreie Eiweißkörper zu erhalten die eigentliche Wirkung der hinzugefügten Salze nicht hat deutlich beobachten können. Wir stellten Versuche zunächst mit Fibrin an, das wir uns in relativ reinem Zustande hergestellt haben. Sie beabsichtigten, die vorliegenden Angaben der Autoren zu prüfen und festzustellen, ob die Wirkung der Salze auf die Verdauung von Fibrin und Collagen dieselbe sei.

1. Reinigung des Fibrins.

Die Reinigung des Fibrins haben wir nach dem Verfahren von HENNINGER [1] vorgenommen, hielten es aber für zweckmäßiger, die Waschungen, ähnlich denen der Gelatine zu verlängern. Ungefähr 1 ½ kg frisch geschlagenes Fibrin aus Rinderblut wurde zuerst in zwei Eimern mit recht kaltem Leitungswasser unter Malaxieren gewaschen, ausgelesen und hierauf in fließendes Wasser von 6° gebracht. Nach 24 Stunden wurde die erste Reinigung wiederholt, die Knoten des Fibrins auseinandergerissen und dasselbe so lange gewaschen, bis das erneuerte Waschwasser sich nicht mehr rötlich färbte. Diese Behandlung mußte noch zwei Tage hindurch fortgesetzt werden, um jede Spur von Blut zu entfernen. Darauf wurde das Fibrin in 6 l ½%ige Schwefelsäure hineingelegt, der 10 g Toluol zugesetzt wurden, und darin 4 Stunden lang bei 0° belassen.

Die Schwefelsäure wurde hierauf durch Ausspülen der täglich malaxierten Fibrinflocken in fließendem Wasser während drei Tagen zum großen Teil entfernt.

[1] A. GAUTIER et ALBAHARY, 120 exercices de chimie pratique, Paris 1899, S. 173.

Jetzt wurde das Fibrin in 8 Litern 1 % Äther enthaltendem destillierten Wassers bei ungefähr 6–8° maceriert. Die Extraktion der anorganischen Stoffe ging entsprechend ihrer Schwerlöslichkeit äußerst langsam vor sich. Wir verlängerten die Maceration so lange, bis das über einer Spiritusflamme auf seinen vierzigsten bis fünfzigsten Teil eingedampfte Extraktionswasser weder mit Ammoniumoxalat noch mit Baryumchlorid eine Reaktion zeigte. Dies erreichten wir, indem wir das Waschwasser alle 3 Tage erneuerten und dabei das Fibrin gut malaxierten, in ungefähr einem Monate. Zwecks Trocknung des Fibrins legten wir es auf einige Stunden in 4 l ca 50%igen Äthylalkohol und über die Nacht in 96%igen Alkohol.

Nach dem Auspressen des letzteren wurde es in der Luftleere über Schwefelsäure getrocknet. Nach drei Tagen stellte es leichte, zerbrechliche, homogene, weiße Flocken vor. In Pulverform gebracht, wurde es bei 105° getrocknet. Da das Fibrin bei seiner Koagulierung, wie Szumowski [1] beschreibt, die Fermente des Blutes mit sich reißt, unter denen sich auch nach de Marbaix und Denys [2] proteolytische befinden, so mußten wir, um ein unseren Zwecken entsprechendes Produkt zu erhalten, diese Fermente zerstören. Wir befeuchteten zu Anfang das bei 105° getrocknete Pulver mit destilliertem Wasser und erhitzten es wieder bei derselben Temperatur. Beim Benetzen erwärmte sich die Mischung von selbst bis auf 37° und verbreitete einen angenehmen Geruch nach Mandeltorte. Später fanden wir

[1] Inaugural-Dissertation, Die Absorption der löslichen Fermente durch das Fibrin, Freiburg (Schweiz), 1898.

[2] *La Cellule* VI, 1, Refer. : *Jahresber. f. Thierchem.* XX, 438 (1890)

es viel praktischer, das extrahierte, ausgepreßte Fibrin direkt, ohne es vorher mit Alkohol behandelt zu haben, im Trockenschrank bei 105° zu trocknen. Wir erhielten auf diese Weise nach 12-stündigem Erhitzen ein leicht pulverisierbares und enzymfreies Produkt. Zwecks vollständiger Reinigung war es noch notwendig, das Fibrin von seinem Fette zu befreien. Dies geschah im Soxhlet-Apparat mittels siedenden Diäthyläthers während 4 Stunden für je 50 g Substanz. Das ausgezogene weiße Fett wurde, bei 105° getrocknet, braun und betrug ungefähr 1,45 Gewichtsprozent des bei 105° getrockneten Fibrins. Der im Fett nachgewiesene Phosphor zeigte Lecithin an, während der positive Ausfall der Reaktion von SALKOWSKI die Gegenwart von Cholesterin verriet. Auch unsere Modifikation der Methode HENNINGERS [1] ergab kein ganz aschenfreies Produkt. Das entfettete und bei 105° getrocknete Fibrin enthielt noch 0,14 % Asche, welche vornehmlich Eisen und Calcium erkennen ließ. HENNINGERS Fibrin lieferte 0,4 % Asche. Von der Firma E. MERCK bezogenes Fibrin, welches LEVITES [2] zu seinen Versuchen gebraucht hatte, hinterließ unserer Analyse zufolge 1,33 % Asche. [3]

In der Meinung, daß zur Begünstigung der Extraktion der schwerlöslichen Salze eine Säure hier mehr am Platze wäre, welche die mineralischen Verunreinigungen auflöst, anstatt diese z. B. das Calcium, noch weniger löslich zu machen, haben wir mit einer kleinen Menge Fibrin folgenden Versuch gemacht: Wir ersetzten die

[1] *loc. cit.*

[2] *loc. cit.*

[3] Fibrin von GRÜBLER (Leipzig), nachträglich bezogen, enthielt 1,602 % Asche mit Fe, Ca, Na.

Schwefelsäure durch Salzsäure und ließen unter sonst gleichen Bedingungen während einer Woche alle Tage erneuertes angesäuertes Wasser auf das Fibrin einwirken. Hierauf wuschen wir es alle Tage während zwei Wochen mit oft gewechseltem destilliertem Wasser aus und erhielten schließlich ein Produkt, von dem 2 g bei der Veraschung nur einen unwägbaren Rückstand hinterließen; es war praktisch aschenfrei. Der Umstand, daß das Fibrin in dem mit etwas Salzsäure angesäuerten Wasser sehr stark anschwillt und sich infolgedessen weniger bequem waschen läßt, kann in Anbetracht des erhaltenen Resultates wohl kaum als ein erheblicher Übelstand angesehen werden. Die bei 105° ungefähr 5 Stunden erhitzte grob gepulverte Substanz gab bei 40°, 8 Stunden mit Wasser behandelt, 0,6 % ihres Gewichtes an dasselbe ab; bei 110° getrocknet, lieferte sie nach der Methode von KJELDAHL 15,68 % Stickstoff.

2. Verdauungsversuche mit Fibrin.

Mit diesem Produkt wurden die Verdauungsversuche begonnen. Zu deren Ausführung haben wir uns einen besonderen Apparat herstellen lassen, welcher eine beständige Mischung der Substanz mit dem künstlichen Magensaft zur Aufgabe hatte. 20 ccm Magensaft mit 0,5 bis 1,0 g Substanz füllten ein Jenaer Reagensglas zu $^2/_3$ an. Zwölf solcher Gläser, welche mittelst Kautschuckpfropfen verschlossen waren, die mit salzsaurem Wasser in der Wärme gewaschen worden waren, wurden in einem metallenen, mit Filz ausgepolsterten Reagensglasträger zusammengehalten. Diese Vorrichtung kam nun in einen Brutschrank von 40° zwischen zwei an einem Querbalken befestigte Scheiben, welche durch

ihren Druck die Gläser einzeln unbeweglich machten. Der Balken saß senkrecht auf einer durch die Wand des Schrankes horizontal eintretenden Achse, welche außerhalb des Schrankes durch einen Elektrometer langsam gedreht wurde. Infolgedessen wurden die Gläser bald aufgerichtet, bald umgekehrt, wodurch ihr Inhalt regelmäßig gemischt wurde. Zur Vermeidung der Mikrobentätigkeit wurden jeder Probe 2–3 Tropfen Toluol zugesetzt. Der künstliche Magensaft bestand gewöhnlich aus 0,25%iger Salzsäurelösung mit 0,1 bis 0,5 % Pepsin. Dieser Säuregrad ist von SALKOWSKI [1] empfohlen worden. Der Gehalt an Pepsin wurde auf Grund von Vorversuchen je nach dem Grad der Verdaulichkeit der Substanz so gewählt, daß der Verdauungsprozeß weder zu rasch noch zu langsam vor sich ging, sondern gut verfolgt werden konnte. Als Pepsin benutzten wir das Produkt von E. MERCK, Darmstadt (pur. in lamell. absol.), welches, bei 100° getrocknet, 5,26 % seines Gewichtes verlor, verbrannt 1,71 % einer Calcium und Eisen enthaltenden Asche hinterließ und (nach KJELDAHL) 12,5 % Stickstoff lieferte. Der Stickstoffgehalt beträgt, auf die bei 100° getrocknete Substanz berechnet 13,3 %. Eine 1%ige Lösung dieses Pepsins in 0,25 %iger Salzsäure zeigte 18 Stunden bei 40° digeriert, keinen Bodensatz, was die Abwesenheit von Nukleïnen bewies. Die Lösung war opalescierend, hellgelb und gab keine wahrnehmbare Reaktion mit Kaliumrhodanat; sie wurde klar nach Zusatz von Ammoniumoxalat sowie auch anderer Salze z. B. Natriumchlorid, Strontiumchlorid.

Ein anderes Pepsin puriss. haben wir zum Vergleiche

[1] SALKOWSKI, *Pract. d. physiol. und path. Chem.* Berlin, 1893, S. 136.

von GRÜBLER (Leipzig) bezogen. Dieses Produkt mit 1,472 % Asche, 9,39 % Wasser und 13,22 % der bei 100° getrockneten Substanz an Stickstoff unterschied sich in Bezug auf sein Verdauungsvermögen wenig vom Pepsin « Merck », wie aus den in Tabelle S. 122 angegebenen Versuchen hervorgeht. Der Säuregrad der Pepsine wurde durch Titration ihrer Lösungen mittels $^1/_{10}$ normaler Natronlauge mit Lackmus als Indikator bestimmt. In Kubikcentimetern normaler Säurelösung ausgedrückt, betrug derselbe für 100 g Pepsin « Merck » 105 ccm und für Pepsin « Grübler » 85 ccm auf lufttrockene Substanz bezogen.

Zur Bestimmung der Menge des verdauten Teiles der Substanz ahmten wir das Verfahren von HÜBNER [1] nach, welcher den Stickstoff der gelösten Substanz bestimmte, anstatt, wie sonst üblich, den unverdauten Rückstand zu wägen. Seine Methode wurde wegen ihrer Genauigkeit von SJÖQUIST [2] und später von OPPLER [3] angewendet. Nach der Trennung des gelösten Teiles vom ungelösten durch Filtration haben wir bei Versuchen mit Fibrin gewöhnlich in 5 ccm Filtrat den Stickstoff nach KJELDAHL bestimmt. Wir haben in diesem Falle wegen der Schwierigkeit zu filtrieren und besonders wegen der starken Absorption der Lösung durch das ungelöste Fibrin den Stickstoff nicht in der ganzen Lösung bestimmen können, wie wir es bei der Verdauung des Collagens später taten. Zur Filtration fanden wir die Filter von C. SCHLEICHER und SCHÜLL Nr. 589 von 9 cm Durchmesser am besten geeignet. Da sich die absorbierte Flüssigkeit aus dem Rückstand wie

[1] *Fortschr. der Med.*, 1894, S. 164.
[2] *Skand. Arch. d. Physiol.*, V, 277 (1895).
[3] Cit. in RICHET, *Dictionnaire de Physiologie*, V, 662 (1902).

aus einem Schwamm auspressen ließ, hielten wir uns für berechtigt, ihre Homogenität annehmen und die Gesamtmenge des Stickstoffs des verdauten Teiles durch entsprechende Multiplikation seiner Menge aus dem zur Verbrennung verwendeten Anteil der Lösung berechnen zu können.

Ganz anders lag der Fall beim Collagen. Obwohl auch hier der Rückstand unter Quellung Flüssigkeit aufnahm, so war dieselbe frei von kolloidalen Verdauungsprodukten, da diese die Collagenschicht nicht durchdringen. Beim Collagen führte eine einfache Multiplikation der Stickstoffmenge aus einigen Kubikcentimetern des Filtrates nicht zum Ziele, daher haben wir den Stickstoff in der Gesamtmenge des Filtrats bestimmen müssen. Der auf das Filter gebrachte Collagenrückstand wurde zwei- bis dreimal nachgewaschen und das ganze Waschwasser mit dem ersten Filtrat vereinigt. Dies ließ sich unschwer ausführen, da die Verdauungsprodukte des Collagens im Gegensatz zu denen des Fibrins leicht durch das Filter gingen.

Den Einfluß der verschiedenen Versuchsbedingungen haben wir uns bemüht, in folgenden Tabellen recht anschaulich wiederzugeben. Die vor sich gegangene Verdauung wurde in Kubikcentimetern des aus der Gesamtmenge der Lösung erhaltenen oder berechneten Ammoniaks in $^1/_{10}$ normaler Konzentration gemessen und verglichen. Diese Zahl entsprach der Menge $\frac{n}{10}$-Schwefelsäure, welche durch das aus dem Filtrat entwickelte Ammoniak neutralisiert wurde, nach Abzug des Ammoniaks des Pepsins und bei Ammoniumsalzen auch desjenigen des Salzes.

Als Maßstab hat fast jede Tabelle den Wert für die gänzlich verdaute Substanz. Jede Serie enthält auch Proben mit Salz ohne Pepsin oder ohne Salz und ohne

Pepsin nur mit salzsaurem Wasser, um die etwaige Wirkung der Lösungen ohne Pepsin mit derjenigen der pepsinhaltigen Proben vergleichen zu können. Die Temperatur der Verdauung schwankte zwischen 38° und 43°. Die Abkürzungen für die Zusätze bedeuten, daß in der zur Verdauung verwendeten Lösung der Elektrolyt sich in der angegebenen $\frac{1}{x}$ normalen Konzentration befindet. Bei Salzsäurezusatz wurde die Säure des Magensaftes nicht mitgerechnet. Außer der gewöhnlichen Menge Säure des Magensaftes haben wir dann noch die angegebene Menge derselben in Lösung.

Fibrin 1,0 g mit 20 ccm:	Zeit der Digestion	Verdauter Teil in ccm Ammoniak $\frac{1}{10}$ n
Magensaft mit 0,1 % Pepsin	1 Std.	78 75
» »	2 »	96 96
» »	3 ½ Std.	106 105,2
» »	4 ½ »	105 102
» »	6 Std.	106 108
1,0 gr. Fibrin total gelöst		111
Salzsäurelösung 0,25 %	6 Std.	2,3
» mit NaCl $\frac{n}{1}$	»	1,0
» » $\frac{n}{2}$	»	2,5
» » $\frac{n}{4}$	»	2,6
» » $\frac{n}{8}$	»	2,5
» » $\frac{n}{16}$	»	2,6
Magensaft 0,1 % Pepsin	»	104
» mit NaCl $\frac{n}{1}$	»	23
» » $\frac{n}{2}$	»	51
» » $\frac{n}{4}$	»	75
» » $\frac{n}{8}$	»	93
» » $\frac{n}{16}$	»	94,5
HCl 0,25 % mit KCl $\frac{n}{1}$	»	1,2
» » $\frac{n}{2}$	»	1,2
» » $\frac{n}{4}$	»	2,2
» » $\frac{n}{8}$	»	1,3
» » $\frac{n}{16}$	»	2,8
» ohne KCl	»	2,0

Fibrin 1,0 g mit 20 ccm :	Zusatz	Zeit der Digestion	Verdauter Teil in ccm Ammoniak $\frac{1}{10}$ n
Magensaft mit 0,1 % Pepsin	KCl $\frac{n}{1}$	6 Std.	28
» »	» $\frac{n}{2}$	»	53,6
» »	» $\frac{n}{4}$	»	78
» »	» $\frac{n}{8}$	»	96
» »	» $\frac{n}{16}$	»	97,3
» »	ohne Zus.	»	102,5
0,25 % Salzsäurelösung	» »	»	4
» »	$CaCl_2$ $\frac{n}{1}$	»	2,8
» »	» $\frac{n}{2}$	»	2,9
» »	» $\frac{n}{4}$	»	3,2
» »	» $\frac{n}{8}$	»	3,6
» »	» $\frac{n}{16}$	»	3,5
Magensaft mit 0,1 % Pepsin	» $\frac{n}{1}$	»	22,8
» »	» $\frac{n}{2}$	»	12
» »	» $\frac{n}{4}$	»	76
» »	» $\frac{n}{8}$	»	96,8
» »	» $\frac{n}{16}$	»	98,8
» »	ohne Zus.	»	104,8
Magensaft mit 0,1 % Pepsin	NaCl $\frac{n}{10}$	$3\frac{1}{2}$ St.	90,5
» »	KCl $\frac{n}{10}$	»	91
» »	LiCl $\frac{n}{10}$	»	89
» »	NH_4Cl $\frac{n}{10}$	»	88
» »	$MgCl_2$ $\frac{n}{10}$	»	88
» »	CsCl $\frac{n}{10}$	»	90

Fibrin 1,0 g mit 20 ccm :	Zusatz	Zeit der Digestion	Verdauter Teil in ccm Ammoniak $\frac{1}{10}$ n
Magensaft mit 0,1 % Pepsin	RbCl $\frac{n}{10}$	3½ St.	92
» »	$CaCl_2$ $\frac{n}{10}$	»	86
» »	$SrCl_2$ $\frac{n}{10}$	»	90
» »	$BaCl_2$ $\frac{n}{10}$	»	91
» »	ohne Zus.	»	105
Ammoniak $\frac{n}{10}$ von 1,ogr. Fibrin			111
Magensaft mit 0,1 % Pepsin	BeCl $\frac{n}{10}$	2½ St.	19.2
» »	$ThCl_4$ $\frac{n}{10}$	»	23.2
» »	$AlCl_3$ $\frac{n}{10}$	»	87
» »	YCl_3 $\frac{n}{10}$	»	89
» »	$LaCl_3$ $\frac{n}{10}$	»	84.5
» »	$DiCl_3$ $\frac{n}{10}$	»	92
» »	$ErCl_3$ $\frac{n}{10}$	»	91
» »	$CeCl_3$ $\frac{n}{10}$	»	91
» »	ohne Zus.	»	102,5
Magensaft mit 0,1 % Pepsin	NaCl $\frac{n}{20}$	3½ St.	95
» »	KCl $\frac{n}{20}$	»	96
» »	LiCl $\frac{n}{20}$	»	94
» »	NH_4Cl $\frac{n}{20}$	»	96
» »	$MgCl_2$ $\frac{n}{20}$	»	98
» »	CsCl $\frac{n}{20}$	»	93
» »	RbCl $\frac{n}{20}$	»	96,5
» »	$CaCl_2$ $\frac{n}{20}$	»	100

Fibrin 1,0 g mit 20 ccm :	Zusatz	Zeit der Digestion	Verdauter Teil in ccm Ammoniak $\frac{1}{10}$ n
Magensaft mit 0,1 % Pepsin	$SrCl_2$ $\frac{n}{20}$	$3\frac{1}{2}$ St.	102
» »	$BaCl_2$ $\frac{n}{20}$	»	100
» »	ohne Zus.	»	109
Magensaft mit 0,1 % Pepsin	$BeCl_2$ $\frac{n}{20}$	»	95
» »	$ThCl_4$ $\frac{n}{20}$	»	78
» »	$AlCl_3$ $\frac{n}{20}$	»	96
» »	YCl_3 $\frac{n}{20}$	»	100
» »	$LaCl_3$ $\frac{n}{20}$	»	96
» »	$DiCl_3$ $\frac{n}{20}$	»	100
» »	$ErCl_3$ $\frac{n}{20}$	»	100
» »	$CeCl_3$ $\frac{n}{20}$	»	100
» »	ohne Zus.	»	100
Ammoniak von 1,0 gr. Fibrin			111
0,25 % Salzsäurelösung	HCl 2 n	2 St.	2,1
» »	» $\frac{n}{2}$	»	1,4
» »	» $\frac{n}{8}$	»	1,6
» »	» $\frac{n}{32}$	»	1,6
Magensaft mit 0,1 % Pepsin	» 2 n	»	2,5
» »	» $\frac{n}{1}$	»	3
» »	» $\frac{n}{2}$	»	13
» »	» $\frac{n}{4}$	»	37,5
» »	» $\frac{n}{8}$	»	69
» »	» $\frac{n}{16}$	»	84
» »	» $\frac{n}{32}$	»	92
» » [1]	ohne Zus.	»	94

[1] Der Säuregrad des Magensaftes (0,25 % HCl) entspricht ungefähr $\frac{n}{15}$ norm. Konzentration.

Fibrin 1,0 g mit 20 ccm :	Zusatz	Zeit der Digestion	Verdauter Teil in ccm Ammoniak $\frac{1}{10}$ n
$^1/_2$ %ige Pepsinlösung	HCl [1] $\frac{n}{16}$	$2^1/_2$ St.	88,2
» »	» $\frac{n}{32}$	»	38
» »	» $\frac{n}{64}$	»	7,2
» »	» $\frac{n}{128}$	»	3,6
» »	» $\frac{n}{256}$	»	2,9
» »	ohne Zus.	»	2,1
Dest. Wasser	» »	»	0,29
$^1/_2$ % Pepsinlösung	HCl $\frac{n}{2}$	$1^3/_4$ St.	37,8
» »	» $\frac{n}{4}$	»	75
» »	» $\frac{n}{8}$	»	97,6
» »	» $\frac{n}{16}$	»	91,8
» »	» $\frac{n}{32}$	»	32,6
» »	» $\frac{n}{64}$	»	7
$^1/_2$ % Pepsinlös. mit KCl $\frac{n}{4}$	HCl $\frac{n}{2}$	»	16,2
» » »	» $\frac{n}{4}$	»	39,2
» » »	» $\frac{n}{8}$	»	69
» » »	» $\frac{n}{16}$	»	50,6
» » »	» $\frac{n}{32}$	»	15,8
» » »	» $\frac{n}{64}$	»	6

[1] $\frac{1}{16}$ normale Lösung enthält 0,225 % HCl.

Die nach unserem Verfahren erhaltenen Resultate sind, wie man sieht, nicht ganz konstant. Der Grund hierfür ist einerseits die Schwierigkeit, unter ganz genau denselben Versuchsbedingungen zu arbeiten andererseits die Unvollkommenheit der Methode zur Bestimmung des Gesamtammoniaks. Da wir oft nur 3 ccm Filtrat zur Bestimmung des Stickstoffs zur Verfügung hatten und da wir stets darauf angewiesen waren, das Gesamtammoniak durch entsprechende Multiplikation zu berechnen, so mußte darunter die Genauigkeit leiden, zumal da auch unsere Annahme der vollkommenen Homogenität der Flüssigkeit der Fibrinverdauung nicht streng richtig sein kann. Anstatt in Prozenten der verdauten Substanz haben wir die Werte in Kubikcentimetern $^1/_{10}$ normalen Ammoniaks ausgedrückt, weil diese Art die beste direkte Einsicht in unsere Protokolle gewährt. Die einzelnen Serien sind nicht gut miteinander zu vergleichen, wohl aber ihre einzelnen Proben untereinander, was für unsere Zwecke vollkommen genügte. Obwohl nach der Tabelle der fortschreitenden Verdauung, S. 105, das Fibrin schon nach einer Stunde zum großen Teile gelöst wurde, und die Wirkung der folgenden Stunden nicht proportional der ersten war, haben wir mit Rücksicht auf die langsame Verdauung in Gegenwart von Salzen zur Sichtbarmachung des Einflusses verschiedenen Konzentrationen derselben auf die Verdauung diese meistens auf 2–3 Stunden verlängern müssen. Die Wirkung der Kationen in der peptischen Verdauung des Fibrins läßt sich kurz folgendermaßen zusammenfassen: Die Kationen wirken hier stets der Wirkung des Pepsins entgegen. Die meisten Kationen üben in den molekular gleichen Konzentrationen ihrer Salze, wie auch Krüger[1]

[1] Oppenheimer, *Die Fermente*, Leipzig 1909, S. 277.

gefunden hat, quantitativ ziemlich merklich gleiche hemmende Wirkung aus. Gesondert für sich ist das H-ion der Salzsäure zu betrachten, ohne welche die peptische Fibrinverdauung überhaupt nicht vor sich gehen kann. Ihre Gegenwart in einer bestimmten Konzentration, die zwischen $^1/_{15}$ und $^1/_{16}$ der normalen Lösung liegt, begünstigt die Wirkung des Pepsins auf das Fibrin am stärksten größere und kleinere Mengen derselben hemmen steigend oder fallend immer mehr die Verdauung und verhindern sie bei einer gewissen maximalen beziehungsweise minimalen Konzentration vollständig. Als typischen Vertreter der meisten Salze in ihrer Wirkung können wir das Kochsalz ansehen. In der Tabelle lesen wir deutlich seine folgende Wirkung ab: Je mehr Salz im Magensaft vorhanden ist, desto größer die Hemmung des Verdauungsprozesses. Auffallend ist die stark hemmende Wirkung des Beryllium- und Thoriumsalzes. Das hierzu verwendete Berylliumchlorid in Salzform war nicht rein; es enthielt 9,1 % Ammoniumchlorid. Für spätere Versuche mit Collagen haben wir uns von der Firma KAHLBAUM ein reines Produkt in Lösung kommen lassen. Es enthielt jedoch auch 2 % Ammoniumchlorid. Das Ammoniak des Salzes ist in den Tabellen von dem Gesamtammoniak der gelösten Substanz abgezogen. Das Thoriumchlorid stammte von E. MERCK, Darmstadt. Die Serie mit KCl $\frac{n}{1}$ und verschiedener Salzsäurekonzentration (S. 109) haben wir in der Absicht ausgeführt, um zu sehen, ob das KCl $\frac{n}{4}$, welches nach LEVITES [1] und WOLLBERG [2] die Verdauung des Fibrins begünstigen soll, etwa bei einem anderen Säuregrade des Magensaftes, den die

[1] *cit.*, S. 86.
[2] *cit.*, S. 85.

Autoren nicht angeben, dieser Wirkung wirklich fähig sei. Die Fibrinverdauung in Gegenwart von Calciumchlorid führt zur Bildung von eigentümlichen weißen Flocken in der Verdauungsflüssigkeit, welche nach dem Absetzen im Reagensgläschen eine Schicht von mehreren Centimetern über dem noch unverdauten Fibrin bilden. Dieselbe Erscheinung erhält man, wenn man dem Filtrat einer Verdauung ohne Salz Calciumchlorid zusetzt und so 1 Stunde bei 40° beläßt. Sie erinnert an die schon mehrfach gemachte Beobachtung [1], daß einige Enzymlösungen, wie Lab, Magensaft, Pankreassekret mit den primären Verdauungsprodukten Plasteïngerinnsel zu bilden vermögen.

Versuche mit Collagen von 130°.

Die nächste Tabelle berichtet über Versuche mit dem Collagen von 130°. Sie haben, wie man sieht, zu dem erhofften Resultat nicht geführt.

Das Glutin-Collagen von 130° ist also für unsere Zwecke unbrauchbar ; unter den für die Verdauung des Fibrins günstigsten Bedingungen wird es vom Magensaft selbst nach 51 Stunden nicht angegriffen. Salze können die Unwirksamkeit des Pepsins nicht verändern. Die Löslichkeit der Collagene aus Gelatinen ist wie die ihrer Ausgangsprodukte etwas größer als die des Glutin-Collagens. Diese stärkere Löslichkeit ist nicht durch die Asche verursacht worden.

Von den zahlreichen Versuchen, die den Zweck hatten, günstige Bedingungen für die Einwirkung des Pepsins auf das Collagen von 130° zu finden, seien nur

[1] Fraenkel, *Descript. Biochemie,* Wiesbaden, 1907, S. 447.

Glutin-Collagen von 130° 1 g mit 20 ccm :	Zusatz	Zeit der Digestion	ccm $\frac{1}{10}$ norm. Ammoniak aus der in 5 ccm [1] des Filtrates gelösten Substanz
Dest. Wasser	ohne Zus.	51 St.	4,50 ccm
0,25 % Salzsäurelösung	» »	»	5,60 »
Magensaft mit 0,1 % Pepsin	» »	»	5,57 »
Magensaft mit 0,1 % Pepsin	$CaCl_2$ $\frac{n}{4}$	$8\frac{1}{2}$ St.	5,92 »
» »	» $\frac{n}{8}$	»	4,9 »
» »	» $\frac{n}{16}$	»	5,3 »
» »	KCl $\frac{n}{4}$	»	5,4 »
» »	» $\frac{n}{8}$	»	5,4 »
» »	» $\frac{n}{16}$	»	5,1 »
» »	NaCl $\frac{n}{4}$	»	5,8 »
» »	» $\frac{n}{8}$	»	5,4 »
» »	» $\frac{n}{16}$	»	5,2 »
» »	ohne Zus. Grübler-Gel.	»	4,9 »
Magensaft mit 0,1 % Pepsin	Asche [2]	»	5,2 »
» »	Coig.-Gel. Asche	»	5,2 »
» $\frac{1}{2}$ %	Grbl.-Asche	»	7,0 »
» »	Coig.-Asche	»	7,0 »
Grübler-Gel.-Collagen von 130° 1,0 g mit 20 ccm :			
0,25 % Salzsäure	ohne Zus.	»	10,1 »
Coignet-Gel.-Collagen von 130° 1,0 g mit 20 ccm :			
0,25 % Salzsäurelösung . .	» »	»	12,6 »
Glutin Collagen von 130° 1,0 g mit 20 ccm :			
0,25 % Salzsäurelösung . .	Grüb.Gel. Asche	»	5,22 »
» »	Coig.-Asche	»	5,4 »

[1] Das Ammoniak der Totalmenge der gelösten Substanz kann hier nicht durch Multiplikation berechnet werden ; Auseinandersetzung, Seite 102.

[2] Die Menge der zugesetzten Asche entsprach immer dem Prozentgehalt in der betreffenden Gelatinesorte.

die folgenden aufgeführt, denen wir Versuche mit dem Collagen von 110° anschließen, das wir uns inzwischen hergestellt hatten.

Collagen von:	Menge in g	Macerationsflüssigkeit 20 ccm	Die zur vollständigen Lösung bei 40° erforderl. Zeit
130°	0,5	Magensaft mit $^1/_2$ % Pepsin u. HCl $\frac{n}{8}$	5 Tage
»	0,5	0,25 % Salzsäurelösung mit HCl $\frac{n}{8}$	5 Tage
»	0,5	Wasser	nach 30 Tagen nicht gelöst
»	0,5	Magensaft mit $^1/_2$ % Pepsin u. HCl $\frac{n}{4}$	3 Tage
»	0,5	0,25 % Salzsäurelösung mit HCl $\frac{n}{4}$	3 »
»	0,5	Magensaft mit $^1/_2$ % Pepsin u. HCl $\frac{n}{2}$	39 Stunden
»	0,5	Salzsäurelösung 0,25 % mit » »	» »
»	0,5	Magensaft mit $^1/_2$ % Pepsin u. HCl $\frac{n}{1}$	15 »
»	0,5	0,25 % Salzsäurelösung mit HCl $\frac{n}{1}$	» »
»	0,5	Magensaft m. $^1/_2$ % Peps. HCl $\frac{n}{1}$ u. KCl $\frac{n}{4}$	» »
»	0,5	» » u. HCl 2 n	$7\,^3/_4$ »
»	0,5	0,25 % Salzsäurelösung m. » »	» »
»	0,5	1 % Pepsinlösung *(ohne Säure!)*	15 »
110°	1,0	0,25 % Salzsäurelösung . . .	6 Tage
»	0,5	Magensaft mit $^1/_2$ % Pepsin . .	8 Stunden
»	1,0	» 1 % »	$3\,^1/_2$ »

Das Pepsin ist in salzsaurer Lösung, die für die Verdauung von Fibrin notwendig war, auf das Collagen von 130° vollkommen unwirksam. Merkwürdig ist der

Fall der Verdauung ohne Säure, mit der wir uns am Schlusse des Kapitels noch einmal befassen werden.

Versuche mit Collagen von 110°.

Gemäß den Ergebnissen der Versuche mit dem Collagen von 110° ist dieses für das Studium der Pepsinwirkung vorzüglich geeignet. Wir haben hier ein Beispiel der katalytischen Enzymwirkung vor uns. Das Enzym beschleunigt die schon an sich, wenn auch langsam, vor sich gehende Hydrolyse bedeutend. Aus diesem Grunde haben wir von nun an mit dem Collagen von 110° gearbeitet. Das Gesamtammoniak des gelösten Teiles haben wir, wie auf S. 103 beschrieben ist, im Filtrate ermittelt. In zweifelhaften Fällen diente der Rückstand zur Kontrolle. Das Filter mit dem ungelösten Collagen wurde in einen Ballon geworfen und zwecks Ammoniakbestimmung nach KJELDAHL verbrannt. Obwohl die Oxydation des Filters sehr schwer vor sich geht, so ist diese Arbeit oft der Mühe wert, da man durch Addition der Werte aus dem Filtrate und dem Rückstand mit stickstoffreiem Filter eine erwünschte, sichere Kontrolle hat. In Fällen, wo die Oxydation der Substanz des Filtrates durch die Gegenwart einiger Salze (z. B. Ca, Ba, Th) sehr erschwert wurde, haben wir meistens nur das Ammoniak des Rückstandes bestimmt und durch Subtraktion das des gelösten Teiles berechnet.

110° Collagen 0,5 g mit 20 ccm:	Zusatz	Zeit der Digestion	ccm $\frac{1}{10}$-norm. Ammoniak aus dem gelöst. Teile
Magensaft mit $^1/_2$ % Pepsin .	NaCl 2 n	2 St.	37,5
» »	» $\frac{n}{1}$	»	50.7
» »	» $\frac{n}{2}$	»	51.5
» »	» $\frac{n}{4}$	»	51
» »	» $\frac{n}{8}$	»	48,3
» »	» $\frac{n}{16}$	»	38,6
» »	» $\frac{n}{32}$	»	36,5
» »	ohne Zus.	»	33
Magensaft mit $^1/_4$ % Pepsin .	$CaCl_2$ 2 n	4 St.	45
» »	» $\frac{n}{1}$	»	49
» »	» $\frac{n}{2}$	»	50
» »	» $\frac{n}{4}$	»	48
» »	» $\frac{n}{8}$	»	42
» »	» $\frac{n}{16}$	»	35
» »	» $\frac{n}{32}$	»	23
» »	ohne Zus.	»	19
0,25 % Salzsäurelösung . .	$CaCl_2$ 2 n	»	10,3
» »	» $\frac{n}{2}$	»	8,8
» »	» $\frac{n}{8}$	»	8,4
» »	» $\frac{n}{32}$	»	10
Mit Wasser bei 40° 10 Stunden ausgezogenes Collagen von 110° 0.5 g mit 20 ccm.			
Dest. Wasser	ohne Zus.	2 St.	1,1
0,25 % Salzsäurelösung . .	» »	»	2,2
Magensaft mit $^1/_2$ % Pepsin .	» »	»	20,8
» »	KCl $\frac{n}{4}$	»	42,8
Ammoniak $\frac{n}{10}$ v. 0,5 g 110° Collagen:			60

110° Collagen 0,5 g mit 20 ccm :	Zusatz	Zeit der Digestion	ccm $\frac{1}{10}$ norm. Ammoniak aus dem gelöst. Teile
Magensaft mit $^1/_4$ % Pepsin .	$AlCl_3$ 2 n	2 St.	37
» »	» $\frac{n}{1}$	»	44
» »	» $\frac{n}{2}$	»	44,5
» »	» $\frac{n}{4}$	»	39,7
» »	» $\frac{n}{8}$	»	33,4
» »	» $\frac{n}{16}$	»	25,6
» »	» $\frac{n}{32}$	»	19,5
» »	ohne Zus.	»	16
0,25 % Salzsäurelösung . .	$AlCl_3$ 2 n	»	6,5
» »	» $\frac{n}{2}$	»	7,8
» »	» $\frac{n}{8}$	»	7,9
» »	» $\frac{n}{32}$	»	8,5
Magensaft mit $^1/_2$ % Pepsin .	$BeCl_2$ 2 n	3 St.	
» »	» $\frac{n}{1}$	»	29,8
» »	» $\frac{n}{2}$	»	36,7
» »	» $\frac{n}{4}$	»	36,9
» »	» $\frac{n}{8}$	»	42,7
» »	» $\frac{n}{16}$	»	41,1
» »	» $\frac{n}{32}$	»	41,8
» »	ohne Zus.	»	20,6
0,25 % Salzsäurelösung . .	$BeCl_2$ $\frac{n}{1}$	»	7,9
» »	» $\frac{n}{8}$	»	8,6
» »	» $\frac{n}{32}$	»	8,5
0,25 % Salzsäurelösung . .	ohne Zus.	»	8,4
Dest. Wasser	» »	»	4
Ammoniak v. 05 g 110° Collagen			60

110° Collagen 0,5 g mit 20 ccm :	Zusatz	Zeit der Digestion	ccm $\frac{1}{10}$ norm. Ammoniak aus dem gelöst. Teile
Magensaft mit $^1/_2$ % Pepsin :	$ThCl_4$ $\frac{n}{4}$	$2^1/_2$ St.	3,4
» »	» $\frac{n}{8}$	»	7,1
» »	» $\frac{n}{16}$	»	11
» »	» $\frac{n}{32}$	»	10,7
» »	» $\frac{n}{64}$	»	11
» »	ohne Zus.	»	29,3
Magensaft $^1/_2$ % Pepsin . .	HCl 2 n	»	60,0
» »	» $\frac{n}{1}$	»	39,9
» »	» $\frac{n}{2}$	»	37,9
» »	» $\frac{n}{4}$	»	44,1
» »	» $\frac{n}{8}$	»	39,5
» »	» $\frac{n}{16}$	»	36,1
» »	» $\frac{n}{32}$	»	32,5
» »	ohne Zus.	»	22,1
0,25 % Salzsäurelösung . .	HCl 2 n	»	51,2
» »	» $\frac{n}{2}$	»	14,8
» »	» $\frac{n}{8}$	»	10,5
» »	» $\frac{n}{32}$	»	9,9
» »	ohne Zus.	»	8,4
$^1/_2$ %ige Pepsinlösung . .	HCl $\frac{n}{16}$	»	23,9
» »	» $\frac{n}{32}$	»	23,5
» »	» $\frac{n}{64}$	»	52,3
» »	» $\frac{n}{128}$	»	53,9
» »	» $\frac{n}{256}$	»	51,5
» »	ohne Zusatz	»	50,4
			60 Ammoniak v. 0,5 g Collagen v. 110°

110° Collagen 0,5 g mit 20 ccm :	Zusatz	Zeit der Digestion	ccm $\frac{1}{10}$-norm. Ammoniak aus dem gelöst. Teile
Magensaft mit $^1/_2$ % Pepsin	KCl $\frac{n}{4}$	2 St.	51
» »	NaCl $\frac{n}{4}$	»	51,5
» »	LiCl $\frac{n}{4}$	»	53
» »	NH_4Cl $\frac{n}{4}$	»	49,5
» »	RbCl $\frac{n}{4}$	»	52
» »	CsCl $\frac{n}{4}$	»	50
» »	$CaCl_2$ $\frac{n}{4}$	»	53
» »	$SrCl_2$ $\frac{n}{4}$	»	54
» »	$MgCl_2$ $\frac{n}{4}$	»	52,5
» »	$BaCl_2$ $\frac{n}{4}$	»	50,6
» »	Gel.-Asche	»	28,9
» »	ohne Zus.	»	24,2
Magensaft mit $^1/_2$ % Pepsin	$BeCl_2$ $\frac{n}{4}$	»	25
» »	$AlCl_3$ $\frac{n}{4}$	»	53
» »	YCl_3 $\frac{n}{4}$	»	51,2
» »	$LaCl_3$ $\frac{n}{4}$	»	49,5
» »	$DiCl_3$ $\frac{n}{4}$	»	53,5
» »	$ErCl_3$ $\frac{n}{4}$	»	54
» »	$ThCl_4$ $\frac{n}{4}$	»	12,2
» »	$CeCl_3$ $\frac{n}{4}$	»	52,6
» »	ohne Zus.	»	24
Magensaft mit $^1/_2$ % Pepsin	» »	»	33
» »	KCl $\frac{n}{4}$, $ThCl_4$ $\frac{n}{4}$	»	26,6

Im Gegensatz zu der Wirkung der Salze in der peptischen Verdauung des Fibrins wird die peptische saure Pepsinverdauung des Collagens von 110° im allgemeinen durch Salze stark begünstigt. Schon kleine Mengen derselben beschleunigen den Verdauungsprozeß; welcher meist bei ½- oder ¼normalen Konzentrationen des Salzes am lebhaftesten wird und darüber hinaus wieder abnimmt. Eine Ausnahme bildet wieder Thorium, welches um so hemmender wirkt, je stärker seine Konzentration ist. Eine mittlere Stellung nimmt das Beryllium ein, es befördert zwar auch die Verdauung, jedoch die günstigste Konzentration ist eine schwächere Lösung; es beschleunigt in der isomolekularen Konzentration von $\frac{n}{1}$ (S. 119) kaum die Verdauung im Vergleich zu der Wirkung der meisten Salze, die auch hier in gleicher Konzentration einen gleichen Einfluß ausüben. Die Mischung zweier verschieden wirkender Salze, die wir auf die Fibrin- und Collagenverdauung einwirken ließen, ergab, was man voraussehen konnte: die resultierende Wirkung ist das Mittel der Wirkungen der einzelnen Salze. Die Salzsäure-Serie S. 118 lehrt uns, daß die Salzsäure bei der Verdauung des Collagens nicht nur überflüssig ist, sondern daß sie sogar bei dem gewöhnlichen Säuregrade des Magensaftes hemmend wirkt. Diese Feststellung ist sehr bemerkenswert und steht im Widerspruch mit den bis heute geltenden Theorien über die Möglichkeit der Wirkung des Pepsins.

Der Einfluß der Säure auf die Wirkung des Pepsins war schon oft Gegenstand der Untersuchung. Eine umfangreiche Arbeit über die Bedeutung der Säuren in der peptischen Verdauung veröffentlichte Sjöqvist [1],

[1] *Skand. Arch. d. Physiol.*, V. 277 (1895).

welche jedoch unserem Befunde gemäß sich durchaus nicht verallgemeinern läßt. Bei Richet [1] finden wir viele Resultate zusammengestellt. Danach hängt der zur peptischen Verdauung günstigste Säuregrad ab von: 1. der Herkunft des Pepsins; 2. der Art der Säure; 3. der Natur der Substanz, welche man der Verdauung unterwirft, und 4. der Konzentration der Verdauungsflüssigkeit. Zu erwähnen sind die Arbeiten von Wroblewski in Bezug auf den ersten und zweiten Punkt. Interessant sind auch die Feststellungen von Herzen, welche von Kossler und Blum bestätigt wurden. Diese Autoren kommen zu dem Schluß, daß das Pepsin ohne Säure auf die sauren Albumine wirken könne, und daß die einzige Bedingung für die peptische Verdauung der Albumine in ihrer vorhergehenden Umwandlung in Säurealbumine bestehe.

Peptische Verdauung ohne Säure.

Unsere Verdauungsversuche mit Pepsin ohne Säure bilden nur den Anfang einer systematischen Untersuchung, welche wegen der Eigentümlichkeit der Pepsinwirkung weiter verfolgt zu werden verdient.

Auf den ersten Blick bemerken wir die hemmende Wirkung der Salze in der Verdauung des Collagens von 110° ohne Säure. Die Stärke dieser Hemmung wächst mit der Menge des Salzes bis zu einem Maximum; darüber hinaus vermindert sich die Hemmung und scheint bei stärkeren Konzentrationen ganz zu verschwinden. Wie immer, wirkt das Thorium auch hier dem Verdauungsprozeß sehr stark entgegen. Säure, wie sie im Magensaft vorhanden ist, scheint nicht nur die

[1] Charles Richet, *Dictionnaire de Physiol.*, V, 653 (1902).

110° Collagen 0,5 g mit 20 ccm :	Zusatz	Zeit der Digestion	ccm $\frac{1}{10}$ norm. Ammoniak aus dem gelöst. Teile
$\frac{1}{2}$ %ige Pepsinlösung . .	ohne Zus.	3 St.	56
Magensaft mit $\frac{1}{2}$ % Pepsin	»	»	21
Magensaft mit $\frac{1}{2}$ % Pepsin	ohne Zus.	2 $\frac{1}{4}$ St.	23,5
0,25 % Salzsäurelösung . .	»	»	9,1
$\frac{1}{2}$ % Pepsinlösung . . .	»	»	17,1
» »	NaCl $\frac{n}{4}$	»	34,1
» »	$ThCl_4$ $\frac{n}{4}$	»	3,3
Dest. Wasser	ohne Zus.	»	3,5
Magensaft mit $\frac{1}{2}$ % Pepsin	ohne Zus.	2 $\frac{1}{2}$ St.	29,3
$\frac{1}{2}$ %ige Pepsinlösung . .	»	»	49,1
» »	NaCl $\frac{n}{16}$	»	11,2
» »	» $\frac{n}{4}$	»	35
» »	» 2 n	»	47,5
» »	$AlCl_3$ $\frac{n}{2}$	»	38,2
Magensaft mit $\frac{1}{2}$ % Pepsin	NaCl $\frac{n}{4}$	»	53
$\frac{1}{2}$ %ige Lösung v. Peps. Grübl.	ohne Zus.	3 $\frac{1}{4}$ St.	50
» » » Merck	»	»	54,5

hemmende Wirkung des Salzes aufzuheben, sondern auch die Verdauung im Vergleich zur Probe ohne Säure und Salz etwas zu begünstigen. Dies ist jedoch tatsächlich nicht der Fall, wie folgende Überlegung zeigt. Um die Wirkung des Pepsins allein zu bestimmen, muß man die lösende Wirkung seines Lösungsmittels in Abzug bringen. Auf diese Weise finden wir für die wässerige Pepsinlösung den Wirkungswert von 44,5 (S. 122) und für die saure ungefähr 43,6, also fast gleiche Werte. Um die Notwendigkeit des Abzuges möglichst deutlich hervortreten zu lassen, haben wir (S. 116) mit Wasser bei 40° während 10 Stunden ausgezogenes Collagen von 110° der Verdauung unterworfen. Wir sehen dort direkt, daß die Wirkung des Magensaftes mit KCl $\frac{n}{4}$ mehr als doppelt so groß wie ohne Salz ist. Diese Verhältniszahl wäre natürlich kleiner, wenn jeder Wert noch die Wirkungsgröße des Pepsinlösungsmittels enthielte.

Allgemeine Übersicht und Schlußwort.

Je mehr man die Bedingungen, unter denen die Pepsinverdauung vor sich gehen kann, untersucht, desto verwickelter erscheinen sie. Ob das Pepsin wirken kann oder nicht, hängt nicht nur von seinem Medium ab, sondern auch von der ihm unterworfenen Substanz, und zwar mehr als man bisher angenommen hat. Die günstigste Bedingung für die Verdauung des Collagens von 110°, wässerige Pepsinlösung ohne Säure (S. 122), läßt das Fibrin vollkommen unangegriffen (S. 109), und umgekehrt ist der beste Magensaft für die Fibrinverdauung, mit 0,25 % HCl (S. 109), auf das Collagen von 110° am wenigsten wirksam (S. 118). Von diesem Punkte an gerechnet finden wir eine gewisse Analogie, obwohl entgegengesetzter Richtung, in der sauren Fibrin- und Collagenverdauung. Alle Salze, welche man dem Magensaft zusetzt, hemmen die Fibrinverdauung und begünstigen die des Collagens von 110°. Während die Hemmung beim Fibrin mit der Stärke der Konzentration gleichen Schritt hält, ist die Begünstigung der Collagenverdauung über eine gewisse Konzentration hinaus vermindert. Die Wirkung des Thoriums ist stets dieselbe, es hemmt in allen Fällen den Verdauungsprozeß sehr stark. Das Verhalten der Salze in der Verdauung des Collagens von 110° ohne Säurezusatz ist demjenigen im sauren Magensaft direkt entgegengesetzt, quantitativ und qualitativ. Alles, was man der reinen Pepsinlösung zusetzen mag, sei es eine Säure, ein Salz oder Alkali, alles beeinflußt ungünstig

die Verdauung des Collagens von 110°. Die hemmende Wirkung der Säure kann hier aber durch Zusatz einer bestimmten Menge von Salz ganz aufgehoben werden.

Die Unverdaulichkeit des Collagens von 130° durch Magensaft war umso unerwarteter als es in salzsaurem Wasser allmählich in Lösung geht (S. 114). Das Pepsin müßte, könnte man denken, diese Auflösung beschleunigen. Eigentümlicherweise bewirkt das Pepsin die Auflösung des Collagens von 130° in einem Mittel, nämlich in Wasser, durch welches allein das Collagen sogar nach langer Einwirkung nicht gelöst werden kann. Genau denselben Fall haben wir beim Fibrin; seine Verdauung geht in einem Lösungsmittel leicht vor sich, welches das Fibrin merklich zu lösen nicht imstande ist.

Im Pepsin haben wir ein typisches Beispiel für die Abhängigkeit der Wirkung eines proteolytischen Enzymes nicht nur von der Reaktion seines Lösungsmittels, sondern auch von der Natur der ihm unterworfenen Proteïnsubstanz.

CURRICULUM VITAE.

Ich bin geboren am 31. Dezember 1880 als Sohn des Güterdirektors Maksymilian in Krześlice, Prov. Posen (Preussen). Meine Vorbildung erhielt ich anfangs am Gymnasium in Wongrowitz (Posen); später verfolgte ich sie am Friedrich-Wilhelms-Gymnasium in Posen und beschloß dieselbe am Berger-Gymnasium ebendaselbst. Hierauf wandte ich mich der Pharmacie zu. Zwecks internationaler Ausbildung in derselben und zur Erlernung fremder Sprachen war ich, außer in Deutschland, noch in Rußland, Italien, Paris und in der Schweiz tätig. Mein pharmaceutisches Examen legte ich vor der Regierung in Posen ab. Meine Universitätsstudien begann ich an der Universität Marburg, wo ich bei E. Schmidt Pharmacie hörte. Ich setzte meine Studien in Freiburg (Schweiz) fort, wo ich Philosophie hörte und mich in Chemie und Physiologie zum Doktorat vorbereitete. Aus der Physiologie habe ich nun meine These gewählt. Nach Beendigung meiner Doktorarbeit wurde ich zum Assistenten am Physiologischen Institut der Universität Freiburg (Schweiz) ernannt. Ich bekleidete diesen Posten 2 Semester lang, worauf ich zur Industrie übergegangen bin.

Es ist mir eine angenehme Pflicht an dieser Stelle allen meinen Lehrern meinen herzlichen Dank zu sagen. Besonderen Dank bitte ich Herrn Prof. Dhéré und Herrn Prof. Bistrzycki entgegenzunehmen für die Anregung zu meiner Arbeit, für ihre Unterstützung, sowie für ihr mir erwiesenes Wohlwollen und Interesse.

Freiburg (Schweiz). — St. Paulus-Druckerei.